
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

LA PATHOGÉNIE DU CHOLÉRA ET LA VACCINATION ANTICHOLÉRIQUE

par J. CANTACUZÈNE.

I

La vaccination anticholérique, dont les dernières campagnes en Orient ont si pleinement démontré l'efficacité, s'est, pendant longtemps, heurtée au scepticisme des médecins et des bactériologistes. Aujourd'hui cette efficacité apparaît clairement ; c'est à elle que les troupes de l'armée d'Orient ont dû d'échapper au péril du choléra, alors qu'elles opéraient dans des régions où, depuis plusieurs années, la maladie s'était installée sous forme endémique. Les statistiques publiées par Arnaud (1) relativement au choléra dans l'armée grecque pendant la deuxième guerre balkanique nous apprennent que, sur une armée de 108.000 hommes, opérant en foyer cholérique, la morbidité fut de 5,75 p. 100 chez les non-vaccinés, de 3,12 p. 100 chez ceux qui subirent une vaccination incomplète et de 0,41 p. 100 seulement chez les hommes vaccinés complè-

(1) ARNAUD, Choléra dans l'armée hellénique en 1912-1913, *Bull. Acad. Méd.*, 1914, t. 71, p. 384.

tement. Voilà des chiffres impressionnants. Mais c'est surtout ce que j'appellerai « l'expérience roumaine » qui a tranché la question et établi la valeur de la méthode sur des bases d'une indiscutable précision; appliquée systématiquement à plus d'un million et demi d'individus militaires et civils, elle a permis en 1913, lors de la campagne de Bulgarie, d'enrayer en peu de jours l'épidémie qui s'était abattue sur l'armée roumaine, puis, en 1916, de juguler littéralement le choléra jusqu'au début de la guerre contre l'Allemagne; il fit de nouveau son apparition parmi les troupes et parmi les populations de la rive droite du Danube qui se retiraient devant les armées de l'envahisseur.

En ce qui me concerne, je puis en parler avec une certitude d'autant plus grande que, témoin actif de ces deux campagnes anticholériques, j'étais moi-même en 1913 quelque peu atteint du scepticisme général qui régnait alors. Etant chargé en 1913 du service des épidémies dans l'armée d'opération, je fis, malgré mes doutes, et dès l'apparition des premiers cas, appliquer la méthode des vaccinations d'une façon aussi systématique que possible (ce qui à cette époque n'alla pas sans quelque difficulté, tant le préjugé était fort). Trois semaines plus tard, devant l'évidence des résultats, mon doute avait fait place à une conviction profonde.

Il n'est pas sans intérêt de rechercher les causes du discrédit qui pendant tant d'années s'attacha à la méthode des vaccinations anticholériques. Ces causes peuvent se ramener à trois principales: 1^o la campagne impitoyable qui fut menée en 1884 contre le Dr Ferran et qui laissa, dans l'esprit des médecins, une impression longue à s'effacer; 2^o le peu de publicité faite autour des expériences de Haffkine dans les Indes, tout intéressantes qu'elles fussent, ainsi que le vague dont s'enveloppèrent les essais tentés en Russie quelques années plus tard. L'imprécision des données qui résultèrent de ces deux campagnes anticholériques ne fit qu'aggraver le scepticisme régnant; enfin, 3^o les conceptions, inexactes sur bien des points, touchant la pathogénie du choléra, qui pendant bon nombre d'années hantèrent l'esprit des microbiologistes et firent que beaucoup d'entre eux considérèrent *a priori* le choléra comme peu justiciable d'une vaccination préventive.

La vaccination anticholérique fut proposée et appliquée pour la première fois à l'homme par le Dr Ferran, de Barcelone, en 1884 (1) ; cet expérimentateur avait commencé par démontrer la possibilité d'immuniser les cobayes contre la péritonite vibrionienne. C'est donc à lui que revient le mérite de cette découverte et il est équitable de lui rendre aujourd'hui une justice qui lui a été refusée, au début, par la commission officielle chargée de contrôler ses expériences. Peut-être sa technique ne fut-elle pas toujours à l'abri des critiques ; on était alors au début de l'ère bactériologique et les méthodes de laboratoire n'étaient pas encore entrées dans la pratique courante. Ferran inoculait des cultures vivantes ; les résultats qu'il obtint semblent avoir été encourageants. Il n'en est pas moins vrai que le verdict prononcé contre lui impressionna fortement le monde médical et abolit pour longtemps toute confiance dans une méthode qui vingt-neuf ans plus tard devait constituer le procédé de choix pour prévenir et combattre une épidémie de choléra.

Quatre années plus tard, en 1888, Haffkine, appliquant à la préparation du vaccin anticholérique les méthodes pastoriennes (premier vaccin atténué et deuxième vaccin exalté au moyen de passages par les animaux de laboratoire), s'en alla tenter aux Indes des expériences sur une vaste échelle. Les résultats, si l'on s'en rapporte aux statistiques (2), furent incontestablement favorables ; cependant ils ne réussirent pas à imposer la conviction, et voici pourquoi : si, parmi les populations de l'Inde soumises à la vaccination, morbidité et mortalité furent infiniment moindres chez les vaccinés que chez les témoins, néanmoins, comme ces essais ne portèrent que sur un petit nombre de villages, l'évolution générale de l'épidémie aux Indes ne s'en trouva guère influencée au point de frapper l'imagination du public. Ainsi ces expériences, mal coordonnées, n'eurent pas le retentissement qu'elles méritaient. Ajoutons qu'elles eussent probablement été plus démonstratives si les doses de vaccin injectées eussent été plus fortes.

(1) FERRAN, a) Communication à l'Académie de Barcelone, 16 juillet 1884 ; — b) Sur la prophylaxie du choléra au moyen d'injections hypodermiques de cultures pures du bacille virgule. *C. R. Acad. des Sciences*, 1885.

(2) HAFFKINE, Vaccinations Against cholera. *Brit. med. journ.*, 1895 et 1899.

Une impression d'imprécision et de flou plus grande encore se dégagait des expériences faites en Russie de 1904 à 1909; malgré les résultats favorables obtenus en certaines régions, elles paraissent avoir faiblement impressionné le grand public médical; les statistiques furent souvent contradictoires; il ne semble pas que la méthode ait été appliquée partout avec une rigueur suffisante. Il est certain que là encore les quantités de vaccin injectées furent en général trop faibles; l'expérience faite en Roumanie nous a montré à quel point, en matière de vaccination anticholérique, les résultats sont variables avec la quantité de corps microbiens que reçoit l'organisme vacciné.

Bref, il faut en arriver aux dernières guerres balkaniques, et particulièrement aux deux campagnes anticholériques roumaines, pour trouver enfin des résultats précis, indiscutables, entraînant la conviction. Là, en effet, les conditions d'expérimentation furent particulièrement favorables; les inoculations ayant été pratiquées avec une régularité, une méthode, une rigueur que seule la discipline militaire permettait de réaliser dans d'aussi vastes proportions; j'ajoute: avec une foi et une ardeur scientifiques tout à fait rares. Je doute, en effet, si au milieu des difficultés et des angoisses de la retraite roumaine en 1916, les résultats prophylactiques eussent pu être ce qu'ils furent en réalité, sans la confiance passionnée, la conscience, le dévouement avec lesquels le personnel des jeunes bactériologistes roumains chargés de combattre le choléra accomplirent leur mission: c'est à eux que nous devons d'avoir éteint en peu de jours l'épidémie dans sa marche envahissante.

Parmi les causes qui ont pendant longtemps retardé la méthode des vaccinations, il faut réserver une place importante aux conceptions pathogéniques. A force d'envisager le choléra comme une maladie toxique issue d'une infection strictement localisée, à la façon de la diphtérie et du tétanos, on s'acharna longtemps à la poursuite d'une sérothérapie jusqu'ici décevante. Le choléra est une maladie toxique; cela est hors de doute, et ses formes rapides présentent les caractères d'un empoisonnement aigu; la présence du vibron cholérique dans les organes reste exceptionnelle; l'hémoculture faite pendant la vie est presque toujours négative; elle est rarement positive

à l'autopsie si celle-ci est pratiquée immédiatement après la mort ; pour ma part, sur 53 autopsies de cholériques faites aussitôt après la mort, je n'ai isolé que cinq fois le vibrion du sang du cœur ; les voies biliaires sont les seules où l'on ait de grandes chances de le rencontrer en dehors de l'intestin.

Le lieu des vibrions cholériques, c'est l'intestin grêle et surtout sa muqueuse. C'est au contact de cette muqueuse dénudée qu'il trouve les conditions favorables à sa pullulation ; c'est là que s'élaborent les poisons spécifiques qui vont agir sur le système nerveux et les capsules surrénales. Il s'agit bien, somme toute, d'une intoxication générale à point de départ intestinal ; l'erreur a été d'assimiler ce processus à celui de la diphtérie et du tétanos et cette erreur a influencé la thérapeutique spécifique : la notion des infections à caractère purement toxique, de leur curabilité par des antitoxines, de la difficulté que l'on éprouve dans la diphtérie, par exemple, à réaliser une vaccination préventive au moyen de corps bactériens, pesait à tel point sur les esprits que l'on constatait une tendance générale à appliquer au choléra des conceptions analogues. De là, pour beaucoup de bactériologistes, une répugnance réelle à accepter la possibilité d'une vaccination active contre le choléra ; cette répugnance trouvait un argument d'ordre expérimental dans l'échec de la vaccination préventive chez les jeunes lapins auxquels on inocule le choléra par voie intestinale (1). Mais n'oublions pas que ce choléra expérimental des jeunes lapins, si intéressant à d'autres égards, s'éloigne trop des conditions normales de l'infection pour qu'il soit possible d'en déduire quoi que ce soit relativement à l'efficacité des vaccinations préventives.

Quoi qu'il en soit, pendant longtemps, les expérimentateurs se détournant de la recherche d'un vaccin préventif, portèrent leurs efforts vers l'obtention d'une bonne toxine soluble et d'un sérum antitoxique. Bien des constatations intéressantes sortirent de ces longues et patientes recherches ; mais il faut bien le reconnaître : les expériences assez nombreuses de sérothérapie pratiquées sur l'homme ont démontré que l'obtention d'un

(1) E. METCHNIKOFF, *Recherches sur le choléra et les vibrions, quatrième mémoire. Ces Annales*, 1894, t. 8, p. 529 et 589.

sérum anticholérique efficace était chose infiniment moins simple que lorsqu'il s'agit de la diphtérie et du tétanos; les produits toxiques élaborés par les vibrions cholériques ne peuvent en effet être comparés à ceux que l'on isole, si facilement, des cultures de diphtérie par exemple.

Dans l'état actuel de la science, nous ne pouvons définir une toxine que par son action sur l'organisme. Or, tandis que, dans la diphtérie ou le tétanos, l'organisme réagit sur le mode antitoxique, il réagit, dans le choléra, sur le mode antibactérien. Voilà un point capital qu'il ne faut pas perdre de vue lorsque l'on poursuit la recherche du traitement spécifique du choléra. Le sang d'un malade qui a surmonté une attaque de diphtérie ne contient ni agglutinines, ni sensibilisatrice spécifiques; on y décele par contre la présence d'antitoxines capables de neutraliser *in vitro* les poisons solubles obtenus dans les cultures. Au contraire, chez un malade guéri du choléra on ne trouve pas d'antitoxines, ainsi que nous l'a démontré Salimbeni (1); mais on y rencontre agglutinines, précipitines et sensibilisatrice anticholériques. Le sang des individus vaccinés contre le choléra se trouve dans le même cas; il ne contient pas d'antitoxines, mais il est excoessivement riche en anticorps bactériens. Je rappelle ici les recherches exécutées en Roumanie par MM. Balteano et Lupu (2). L'apparition et l'évolution des anticorps dans le sang des individus vaccinés contre le choléra y sont minutieusement étudiées et suivies jour par jour. Contrairement aux affirmations d'Aaser (3), ces expérimentateurs ont établi que la quantité des anticorps aussi bien que leur persistance dans le sang croît avec le nombre des injections vaccinales: d'autre part, ils n'ont pu constater de baisse appréciable dans la quantité d'anticorps présents à la suite d'une nouvelle inoculation d'antigène. Leurs expériences seraient par conséquent défavorables à l'idée de l'existence d'une « phase négative ».

La possibilité de vacciner activement contre le choléra

(1) A. T. SALIMBENI, Recherches sur la vaccination préventive contre le choléra asiatique. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1915, t. 8, p. 17 et 22.

(2) J. BALTEANO et N. LUPU. *C. R. Soc. Biol.*, 1914, t. 76, p. 689 et 693.

(3) AASER, Ueber die Schutzimpfung des Menschen gegen Cholera asiatica. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1910, p. 34.

résulte d'ailleurs de l'observation clinique courante : une attaque de choléra confère à l'individu qui l'a surmontée une immunité certaine ; les récidives au cours d'une même épidémie sont rarissimes ; j'en possède pour ma part qu'une seule observation personnelle, la récidive survenue à deux mois de distance, ayant été suivie de mort ; et si l'on ne peut encore déterminer quelle est la durée de cette immunité, son existence du moins est indiscutable. Je rappelle à ce propos les intéressantes constatations faites au cours de la dernière guerre par MM. Galasesco et Balteano (1) ; 27 cholériques, ayant terminé leur convalescence depuis une quinzaine de jours, reçurent sous la peau des doses de vaccin anticholérique qui chez un individu normal eussent déterminé la réaction générale et locale bien connue. Les résultats furent d'une remarquable constance : « Aucun des individus inoculés ne présenta la moindre « réaction ; ni douleur locale, ni gonflement, ni fièvre, ni « malaise si léger fût-il. » L'attaque de choléra avait immunisé ces hommes contre l'antigène cholérique. Je rappelle également que des cobayes ayant reçu plusieurs fois à un intervalle de dix à quinze jours, des vibrions cholériques dans l'estomac, sont solidement vaccinés contre la péritonite vibriennienne, à condition d'attendre pour les éprouver, que dix-huit jours se soient écoulés depuis la dernière inoculation gastrique (2).

Tâchons maintenant, à la lumière de quelques données nouvelles, de nous rendre compte en quoi les conceptions pathogéniques anciennes doivent être modifiées.

Notons d'abord ceci : lorsque l'on parle pour la diphtérie ou le tétanos d'infection localisée, il s'agit d'une infection localisée à une surface assez petite. Il n'en est pas de même du choléra ; la plus grande partie de la muqueuse de l'intestin grêle est envahie par des vibrions, ce qui représente une surface énorme et un champ d'infection hors de proportion avec ce que l'on observe dans les maladies citées plus haut. Il est difficile dans ces conditions de parler d'infection locale.

(1) GALASESCO et BALTEANO. *C. R. de la Soc. médico-chirurgicale du front russo-roumain*, 1917, t. 1.

(2) J. CANTACUZÈNE, Recherches sur le mode de destruction des vibrions dans l'organisme. *Thèse de Paris*, 1894, p. 139.

D'autre part, il est certain qu'entre le milieu intestinal (intestin grêle) et les vibrions cholériques, il existe des relations nécessaires, qui donnent aussi bien à l'infection qu'à la réaction organique une physionomie toute spéciale. Nous devons aujourd'hui considérer l'infection cholérique avant tout comme une infection de la muqueuse intestinale et l'immunité contre le choléra comme une immunité de l'intestin lui-même. L'immunité apparaît dans l'intestin grêle avant d'apparaître dans le sang ; le fléchissement de la résistance de l'organisme au choléra intestinal correspond à un fléchissement de cette immunité locale ; immuniser l'organisme contre le choléra revient surtout à immuniser la muqueuse de l'intestin grêle contre l'infection vibrionienne.

Il y a là un processus d'attaque et de défense très particulier et qui présente plus d'un point d'analogie avec les processus analogues étudiés récemment par M. Besredka à propos de la dysenterie et des infections typho-paratyphiques (1).

Le vibron cholérique est un micro-organisme entérotrope. Quel que soit son point d'introduction dans l'organisme, qu'on l'inocule par voie gastrique, par voie péritonéale ou sanguine, par injection intracérébrale, ou par la voie biliaire, c'est toujours à la muqueuse de l'intestin grêle que l'infection aboutit. Les travaux de Baroni (2), Sanarelli (3), Violle (4), Cantacuzène et A. Marie (5), etc., le démontrent ; quel que soit ce point d'introduction, au bout d'un certain temps la muqueuse d'abord, puis la lumière de l'intestin grêle, sont envahies ; au point que l'on peut affirmer, sans trop de paradoxe, que le moyen le plus sûr de déterminer chez les cobayes une entérite cholérique est de pratiquer l'inoculation par voie intraveineuse ou intrapéritonéale. Quand l'infection a lieu par voie gastrique comme chez l'homme, l'épithélium intestinal offre à la pénétration du vibron dans la muqueuse une barrière difficile à

(1) A. BESREDKA, Du mécanisme de l'infection dysentérique, de la vaccination contre la dysenterie par la voie buccale et de la nature de l'immunité dysentérique. Ces *Annales*, 1919, t. 33, n° 5. — Id. Reproduction des infections paratyphique et typhique. Ces *Annales*, 1919, t. 33, n° 8.

(2) V. BARONI et CEAPARU. *C. R. Soc. Biol.*, 1912, t. 72, p. 894.

(3) C. SANARELLI, Pathogénie du choléra. *La Presse Médicale*, 1916, p. 505.

(4) H. VIOLLE, De la vésicule biliaire envisagée comme lieu d'inoculation. Ces *Annales*, 1912, t. 26 et *C. R. Acad. des Sciences*, 1911, t. 150, p. 1524.

(5) J. CANTACUZÈNE et A. MARIE. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, t. 32, p. 842.

franchir ; tant que le vibron est présent dans la cavité intestinale seule, il n'y a point de choléra. Pour que le processus pathologique apparaisse il faut qu'il y ait lésion de la barrière épithéliale et que l'infection de la muqueuse puisse s'amorcer en quelque point. Or cet amorçage peut se faire par les mécanismes les plus divers ; toutes les causes capables de détériorer l'épithélium de l'intestin grêle ou de le modifier au point de vue de son état d'équilibre physiologique peuvent suffire. La muqueuse de l'intestin grêle représente une des plus vastes surfaces d'élimination de l'organisme pour les poisons élaborés dans les tissus ; son importance à ce point de vue n'est peut-être pas loin d'être comparable à celle du rein lui-même ; quand cette élimination est pathologique apparaissent des lésions de l'épithélium en même temps qu'un fléchissement de tout le système de défense localisé dans la paroi intestinale. C'est ainsi que bien des produits d'auto-intoxication parmi lesquels il faut vraisemblablement compter ceux par exemple qui résultent du surmenage, modifient cette muqueuse et favorisent la pénétration des vibrions cholériques. Tous les anciens observateurs ont signalé, et les dernières campagnes nous ont démontré une fois de plus, l'influence très grande du surmenage sur la genèse du choléra. Je puis citer l'exemple du ...^e régiment d'infanterie roumaine, un de ceux qui pendant la campagne de Bulgarie payèrent au choléra le plus lourd tribut ; les cas de choléra cessaient de se produire sitôt que le régiment était mis au repos pendant quelques jours, pour recommencer dès qu'il se remettait en marche ; ce rythme se reproduisit régulièrement un certain nombre de fois, jusqu'à ce que le triage des porteurs de germes et une vaccination générale eussent mis fin à l'épidémie (1). Les entérites banales par indigestion, les septicémies à tendance entérotrope telle que la colibacilliose (expé-

(1) Voici un autre cas fort typique. En 1916, le ...^e régiment de la ...^e division qui campait en Dobrogea, en plein foyer cholérique et qui avait présenté quelques cas de choléra (les vaccinations préventives avaient été faites dans cette division avec une négligence manifeste), fut revisé au point de vue des porteurs de vibrions avant de partir pour le front. On y découvrit huit porteurs de germes parfaitement sains d'ailleurs (sept soldats et un officier) que le commandant refusa de laisser en arrière. Après deux jours de marches forcées le régiment exténué arriva à P. et entra aussitôt en tranchées. Les huit porteurs eurent le choléra dès lendemain de leur arrivée.

riences de Sanarelli (1), les purgatifs [expériences de Pottévin et Violle (2), de Cantacuzène et Marie] (3), d'injection sous-cutanée de sérum entérolytique [expériences de M. Nasta (4), la suppression de la sécrétion biliaire Violle] (5), peuvent provoquer le choléra en permettant aux vibrions présents dans l'intestin de pénétrer dans la muqueuse. Peut-être, ainsi que l'a supposé Metchnikoff (6), existe-t-il quelque association microbienne inconnue capable de favoriser et d'amorcer la pullulation intrapariétale des vibrions cholériques. Il n'est pas impossible non plus que le vibron cholérique lui-même en exaltant sa virulence au cours des passages d'homme à homme, ne devienne par lui-même, à un moment donné, capable de réaliser l'effraction de la barrière épithéliale; l'observation clinique nous démontre en effet l'extrême virulence des vibrions fraîchement sortis de l'organisme malade. Il est fort probable d'ailleurs que la pénétration dans la muqueuse intestinale d'un petit nombre de germes cholériques, en y réalisant un début d'immunité locale, sensibilise cette muqueuse pour l'intoxication vibronienne : c'est ainsi que des expériences faites avec M. A. Marie nous ont montré que l'extrait d'intestin grêle vacciné qui, injecté préventivement sous la peau, protège un cobaye contre une dose mortelle de vibrions inoculés dans le péritoine, détermine au contraire une péritonite vibronienne mortelle lorsqu'on l'inocule dans le péritoine en même temps qu'une dose non mortelle de vibrions. On voit par les exemples précédents que l'amorçage de l'infection pariétale constitue encore un point très obscur de la pathogénie du choléra. Cet amorçage une fois réalisé, la muqueuse est envahie; les vibrions y pullulent souvent avec une surprenante rapidité et inondent l'organisme de leurs produits toxiques.

La muqueuse intestinale représente, en effet, un milieu essen-

(1) G. SANARELLI, Pathogénie du choléra. *La Presse Médicale*, 1916, p. 505.

(2) H. POTTEVIN et H. VIOLE, Transmission du choléra aux singes par la voie gastro-intestinale. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1913, t. 6, p. 482.

(3) J. CANTACUZÈNE et A. MARIE, Choléra gastro-intestinal chez le cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, 1914, t. 76, p. 306.

(4) M. NASTA. *C. R. Soc. Biol.*, 1914, t. 77, p. 477.

(5) H. VIOLE, Sur la pathogénie du choléra. *C. R. Acad. des Sciences*, 1914, t. 458, p. 1740.

(6) E. METCHNIKOFF. *Ces Annales*, 1894, t. 8, p. 529 et 589.

tiellement favorable à cette pullulation du vibron, ainsi qu'à l'exaltation de ses propriétés pathogènes. On est frappé, à l'autopsie d'individus chez lesquels le choléra a évolué d'une façon suraiguë, de voir combien les vibrions sont rares dans le contenu liquide de l'intestin grêle; au contraire, au contact immédiat de la paroi dénudée, on les trouve en quantités prodigieuses, la majorité d'entre eux en voie de vibriolyse. Il faut que la maladie se prolonge un peu pour que les vibrions apparaissent en masse dans le liquide intestinal; l'envahissement de la muqueuse semble donc précéder celle du tube digestif. Cette action favorisante de la muqueuse peut se démontrer expérimentalement. Il résulte de nos recherches faites avec A. Marie (1) qu'il suffit d'ajouter à une dose non mortelle de vibrions cholériques introduits dans le péritoine d'un cobaye une faible quantité d'extrait d'intestin grêle normal, parfaitement inoffensive par elle-même, pour provoquer en très peu d'heures une péritonite cholérique mortelle avec invasion de la muqueuse et de la lumière intestinale.

D'autre part, il est certain aujourd'hui que chez les animaux immunisés contre le choléra, à côté de l'immunité générale s'établit également une immunité locale de la paroi intestinale; bien plus, l'immunité locale semble précéder l'immunité générale et s'établir plus rapidement qu'elle. Dans un travail déjà ancien (2) j'avais constaté que chez les cobayes vaccinés contre le choléra par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale, les vibrions cholériques trouvent dans l'intestin grêle un milieu bactéricide qui les fait rapidement périr: dans ce cas les vibrions vivants ont disparu de l'intestin grêle trois heures après l'inoculation, tandis que chez les témoins non vaccinés les vibrions s'y rencontrent en grand nombre vingt-cinq heures après l'injection par voie gastrique. Nous avons montré dans des recherches récentes (3) que la sensibilisatrice apparaît dans

(1) J. CANTACUZÈNE et A. MARIE, Action activante de la muqueuse intestinale sur des propriétés pathogènes du vibron cholérique. *C. R. Soc. Biol.*, 1919, t. 82, p. 842.

(2) J. CANTACUZÈNE, Recherches sur le mode de destruction des vibrions dans l'organisme. *Thèse de Paris*, 1894.

(3) J. CANTACUZÈNE et A. MARIE, Sur l'apparition précoce de sensibilisation spécifique dans l'intestin grêle des cholériques. *C. R. Soc. Biol.*, 1919, t. 82, p. 981.

l'intestin grêle dès les premières heures qui suivent l'imprégnation de l'organisme par l'antigène cholérique ; ce pouvoir sensibilisateur de l'intestin est très énergique d'emblée. A ce même moment la sensibilisatrice n'existe pas encore dans le sang ou n'y existe que sous forme de traces.

De cet ensemble de faits, il résulte la notion très claire que les procédés mis en œuvre par l'organisme pour lutter contre le choléra sont avant tout d'ordre antibactérien ; dès lors, la vaccination préventive au moyen de corps microbiens apparaît comme une méthode absolument rationnelle. Les résultats expérimentaux fournis par les deux dernières campagnes anticholériques, en Roumanie, constituent une magnifique démonstration pratique de cette affirmation.

Ce sont les résultats de cette expérience roumaine que nous allons exposer maintenant.

II

Au cours de ces dernières années, la Roumanie eut à subir deux attaques de choléra : la première pendant l'été de 1913, au moment de la campagne de Bulgarie ; puis en septembre 1916 presque aussitôt après son entrée en campagne contre les puissances de l'Europe centrale. Dans l'intervalle des deux épidémies, c'est-à-dire pendant près de trois ans, on ne signala aucun cas suspect en Roumanie qui resta complètement indemne pendant ce laps de temps, bien qu'elle fût environnée de foyers cholériques sur toutes ses frontières.

Ces deux apparitions du choléra en Roumanie se rattachent à la grande pandémie, la huitième dans l'ordre historique, qui depuis 1904 a pénétré dans l'Europe orientale et s'y est maintenue depuis lors. L'origine de cette pandémie se trouve dans le pèlerinage musulman de 1902 ; elle présente ceci de particulier qu'elle a suivi une voie de pénétration toute nouvelle qui n'est ni l'antique route des caravanes de l'Afghanistan et de la Perse, ni celle de la mer Rouge et des ports méditerranéens, mais bien le nouveau chemin de fer, qui du Hedjaz

mène vers Damas et Alep. De là le choléra envahit l'Asie-Mineure d'une part, la Perse de l'autre; elle s'est depuis lors maintenue en Asie-Mineure sous forme de foyers endémiques qui en 1912 se propagèrent dans la péninsule balkanique à l'occasion de la guerre turco-bulgare; d'autre part, de Perse elle gagnait la mer Caspienne et atteignait Bakou en 1904. Le choléra sévit avec une extrême violence en Russie de 1904 à 1909; en 1909 plus de 8.300 cas se produisirent dans la seule ville de Pétrograd. A partir de 1909 l'épidémie russe décroit d'intensité, tout en se maintenant jusqu'à l'époque actuelle sous forme de foyers endémiques. A l'occasion des récents mouvements militaires, elle subit une recrudescence, poussant des pointes en Allemagne (camps de prisonniers russes de Dantzig et de Königsberg) et surtout en Autriche-Hongrie où elle fit en 1914 et 1915 de nombreuses victimes. La péninsule balkanique relativement épargnée jusque-là fut envahie en 1912 par le choléra qu'y importèrent les troupes turques d'Anatolie; il décima les deux armées belligérantes devant les lignes de Tchataldja; depuis il n'a jamais quitté la péninsule et c'est là que l'armée roumaine s'infecta en juillet 1913.

L'actuelle pandémie cholérique n'avait guère touché la Roumanie avant 1913; quelques cas isolés s'étaient produits en 1908, 1909, 1910 et 1911 dans les ports du bas Danube (Galatz et Braïla) et de la mer Noire (Constantza) qui ont avec la Russie des relations journalières. Grâce à d'actives et incessantes mesures de surveillance, ces foyers naissants furent toujours rapidement éteints sur place et jamais l'épidémie ne s'étendit. En 1912 et pendant la première moitié de 1913, aucun cas ne fut signalé en Roumanie et l'armée était absolument indemne de choléra lorsqu'elle franchit le Danube à la fin de juin 1913.

L'armée roumaine, qui entra en Bulgarie en 1913, n'était pas vaccinée contre le choléra; la campagne avait été décidée presque à l'improviste et d'ailleurs les vaccinations à ce moment n'étaient pas encore à l'ordre du jour. C'est à Vratza, dans les Balkans, que les troupes prirent le germe de la maladie qui y régnait depuis plusieurs mois; cinq jours après avoir traversé cette localité, le 13 juillet, un premier cas de choléra se produisit parmi les troupes du premier corps d'armée (...^e régi-

ment d'infanterie). Le même jour se produisit dans ce même régiment une véritable explosion de cas. De là l'épidémie fit très rapidement tâche d'huile parmi les hommes exténués par des marches forcées. Le 20 juillet l'on comptait déjà plus de deux mille cas. Ceux qui à cette époque ont connu l'hôpital improvisé d'Orhanian ont gardé de cet enfer un ineffaçable souvenir! La situation était critique et le choléra s'étendait rapidement à l'armée entière. Dès la première alerte l'emploi systématique de la vaccination avait été décidé; mais quelques jours se passèrent avant que l'on pût parer au danger et fabriquer en hâte à Bucarest des quantités suffisantes de vaccin anticholérique. Les inoculations ne purent être commencées que le 22 juillet. Que l'on songe aux difficultés presque insurmontables que l'on éprouva lorsqu'il s'agit d'appliquer cette méthode à des troupes en marche, manœuvrant en pays ennemi, et que pour des raisons stratégiques, faciles à comprendre, on ne pouvait immobiliser. Les circonstances permirent néanmoins de fixer sur place le premier corps d'armée où le choléra à ce moment faisait rage. Les 50.000 hommes qui le composaient furent répartis autour d'Orhanian en bivouacs bien isolés les uns des autres, et vaccinés intégralement. Le résultat dépassa toutes les espérances; l'épidémie y fut arrêtée net. Nous donnons plus loin la relation de cette remarquable expérience.

Pendant ce temps, dans le reste de l'armée les vaccinations se faisaient tant bien que mal, au hasard des marches et des haltes, lorsque, les préliminaires de paix étant signés le 31 juillet, les troupes reçurent l'ordre de rebrousser chemin et de se replier sur le Danube. On put maintenir sur place jusqu'à la fin des vaccinations le premier corps et l'épidémie y était éteinte le 4 août. Mais le quatrième corps (celui de Moldavie) était gravement atteint lorsque dans sa marche en arrière il arriva sur le Danube. Que faire? Le renvoyer dans ses foyers était exposer la Moldavie à la contamination certaine: prolonger son séjour en Bulgarie était chose impossible, le retrait immédiat des troupes roumaines étant l'une des conditions de la paix. Le corps d'armée tout entier fut alors transporté sur la rive gauche du Danube, fixé sur place et mis en quarantaine aux environs de Zimnicea. Tous les hommes,

au nombre d'une ci. quantaine de mille, furent vaccinés; chez tous, sans exception, l'on pratiqua l'examen bactériologique des matières fécales. Les porteurs de germes étaient légion; on en trouva 42 p. 100 dans l'un des régiments. Les laboratoires arrivaient à exécuter 1.800 à 2.000 analyses de matières par jour. A mesure que le triage des porteurs de germes était terminé pour chaque unité, ces derniers étaient isolés du reste et retenus sur place: le groupe indemne était renvoyé dans ses foyers après vaccination complète. On ne levait la quarantaine pour les porteurs sains qu'après que deux nouvelles analyses pratiquées sur chacun d'eux eussent démontré qu'ils n'étaient pas contagieux.

Ces opérations de triage et de vaccinations demandèrent pour être terminées vingt-neuf jours, du 9 août au 6 septembre. On peut dire qu'aucun soldat appartenant au IV^e corps ne quitta Zimnicea qu'après avoir été vacciné et reconnu indemne de vibrions. On ne peut que rendre un juste hommage aux jeunes bactériologistes qui surent mener à bien ces longues et délicates opérations. Quant au résultat, voici: on ne signala dans toute la Moldavie, après la démobilisation du corps d'armée, que quatre cas de choléra; il fut constaté d'ailleurs qu'ils se produisirent chez quatre individus n'appartenant pas au corps d'armée et immigrés de points éloignés du pays. N'est-ce pas là le triomphe des méthodes de laboratoire appliquées à la prophylaxie des maladies infectieuses? Peu d'exemples sont plus démonstratifs que celui-là.

Tandis que l'on s'efforçait de la sorte à éteindre l'épidémie de choléra dans l'armée, les convois de ravitaillement et de munitions passant et repassant de la rive gauche du Danube sur la rive bulgare, faisant la navette d'un point à un autre, disséminaient la maladie et l'introduisaient en Roumanie dans la population civile. Si l'explosion brusque qui marqua les débuts de l'épidémie dans l'armée peut être mise sur le compte d'une origine hydrique, il n'est pas douteux que c'est aux porteurs sains de germes qu'est due la contamination de la population civile en Olténie et dans une partie de la Valachie. Grâce à d'énergiques mesures de vaccinations générales appliquées à la population civile dans tous les villages où l'épidémie se déclarait, on eut promptement raison de cette

dernière. En novembre on signalait le dernier cas de choléra. Tel est en résumé l'historique de l'épidémie de 1913; après avoir commencé avec une extrême violence, elle était complètement éteinte, aussi bien dans l'armée que dans la population civile, moins de quatre mois après le début, si bien éteinte qu'aucun cas de choléra ne fut constaté en Roumanie pendant tout le cours des années 1914, 1915 et la première moitié de 1916.

Lorsque s'ouvrit la campagne de 1916, la Roumanie était donc indemne de choléra et constituait un îlot isolé entouré de populations et d'armées contaminées. Contrairement à ce qui s'était passé en 1913, l'armée était vaccinée presque entièrement; comme il arrive d'ordinaire en pareil cas, un certain nombre d'hommes étaient parvenus à se soustraire à la vaccination: permissionnaires, ordonnances, soldats appartenant aux colonnes de ravitaillement et échappant facilement au contrôle, gradés divers, etc..., représentant environ 8 à 10 p. 100 de l'effectif total; en outre, une division d'infanterie, la ..., n'avait été vaccinée que très négligemment, sans doute par suite de la mollesse du commandement. Cette division, au début de la campagne, fournit un certain nombre de cas de choléra; mise au repos pendant quelques jours, après les premiers revers de l'armée roumaine, l'on profita de ce répit pour la soumettre à une vaccination générale. A partir de ce moment, elle ne présenta plus aucun cas suspect malgré le surmenage intensif auquel elle fut soumise.

C'est sur la rive droite du Danube, parmi la population civile de la Dobrogea, que le choléra apparut en septembre. Quand et par qui fut-il importé? Probablement par les troupes russes d'une part, et de l'autre par les espions bulgares qui sillonnèrent le pays en grand nombre durant les semaines qui précédèrent l'entrée en campagne, passant et repassant la frontière sans relâche. Il est certain qu'à ce moment, et avant toute apparition de cas confirmés, les porteurs sains de vibrions abondèrent dans la Dobrogea, ainsi que le démontra l'enquête bactériologique faite dès la constatation du premier cas positif.

Le choléra éclata en effet tout d'abord dans un camp de Bulgares et de Turcs dobrogiens internés à Galatz; parmi ceux-ci, un groupe de 4.200 individus appartenant à des

familles aisées du district de Tulcea et qui ne fournirent d'ailleurs aucun cas de choléra, présenta néanmoins une proportion de 5 p. 100 de porteurs sains; dans le deuxième groupe de 5.500 personnes, provenant des villages du quadrilatère (Dobrogea méridionale), on constata la présence de porteurs de germes dans la proportion de 7 p. 100; c'est dans ce second groupe que le choléra éclata avec violence; l'épidémie y fut jugulée en très peu de jours par la vaccination intensive; on lira plus loin le récit détaillé de cette remarquable observation. Puis des cas de plus en plus nombreux furent signalés parmi la population dobrogienne, quelques cas isolés apparurent également parmi les troupes roumaines manœuvrant dans cette région. Ceci se passait au mois d'octobre. Cependant, les armées ennemies progressaient au sud du Danube; Constantza fut occupé; les Russes abandonnèrent la rive droite. Ce fut alors parmi les habitants de ces provinces une panique indescriptible; à ce moment commença le lamentable exode des populations dobrogiennes vers la rive gauche du Danube; on fuyait en masse devant les envahisseurs; en deux ou trois jours les routes se couvrirent de longs convois de fugitifs composés de femmes, d'enfants et de vieillards, à pied ou en charrettes à bœufs, la plupart transis et affamés roulant à flots pressés vers le Danube pour mettre le fleuve entre eux et les Bulgares; le choléra accompagnait ces troupes d'hommes en détresse et déjà les chemins de l'émigration se jalonnaient de croix et de tombes. La situation devenait critique pour la Roumanie de la rive gauche où les émigrés commençaient à affluer et à se disséminer en éventail, s'installant par familles ou par petits groupes dans les villages des districts de Braila, Ialomitza, Covurlui, Ramnicu-Sarat et Buzou; déjà çà et là, dans ces villages, on commençait à signaler des cas de choléra. L'ensemencement était en train de se faire. Il fallait agir vite et fort. Des têtes de pont sanitaires furent aussitôt établies sur le Danube à Galatz et à Braila, points de passages des réfugiés. Tout habitant de la rive droite arrivant sur la rive gauche recevait une injection massive (4 à 5 cent. cubes) de vaccin anticholérique sous la peau, et n'était admis qu'à la condition de se soumettre à cette mesure. La population des grandes villes danubiennes,

Braila et Galatz, par où s'écoulait le flot des fugitifs, fut vaccinée intégralement en quelques jours. Tous les villages où s'arrêtaient les réfugiés dobrogiens furent scrupuleusement repérés et leurs habitants vaccinés en bloc. Le personnel de nos laboratoires et hôpitaux de contagieux de campagne, concentré dans les régions menacées, y exerçait une surveillance impitoyable et ne laissait rien passer. Les troupes roumaines de l'armée de Dobrogea, à mesure qu'elles repassaient sur la rive gauche, étaient elles-mêmes revaccinées systématiquement. Les résultats furent décisifs; l'immense danger qui provenait de la dissémination du choléra par les réfugiés de la Dobrogea fut conjuré en quelques jours. Les foyers naissants furent éteints les uns après les autres. Des porteurs de germes continuèrent malgré tout à circuler assez longtemps à travers le pays; c'étaient surtout des réfugiés réduits à l'état de vagabondage, résidus de la déroute, errant misérablement de village en village, ou campant tant bien que mal en plein champ, dans les régions de Tecuci et de Marasesti, affamés le plus souvent, peu ou pas vêtus, offrant le spectacle d'une effroyable déchéance physiologique, insaisissables au milieu du désarroi général. Si pendant quelques semaines encore, on signala çà et là, dans quelques villes moldaves (Botosani, Vaslui), des cas isolés de choléra, importés par ces errants, chaque fois l'épidémie naissante fut arrêtée net par l'isolement des premiers cas et la vaccination pratiquée en bloc sur toute la population locale. Il n'y eut pas d'épidémie; on n'entendit plus parler du choléra au cours de la guerre malgré les fatigues, les privations, la misère et les épidémies intercurrentes (typhus exanthématique et fièvre récurrente). Cette belle victoire prophylactique fut due à la seule vaccination, appliquée en grand, avec ténacité, vigilance, et confiance. Telle fut la seconde épidémie roumaine; étant données les circonstances au milieu desquelles elle prit naissance, elle eût pu tourner à la catastrophe; quelques semaines suffirent pour la maîtriser complètement et le nombre total des cas, fort difficile à préciser, fut en somme très faible.

Nous allons passer maintenant à l'étude détaillée d'un certain nombre d'observations caractéristiques qui mettent pleinement en lumière la valeur de la vaccination anticholérique.

III

Nous avons fait usage pour nos vaccinations d'un vaccin polyvalent, dans la composition duquel entraient vingt-cinq races de vibrions, dont quinze provenant de l'épidémie régnante. Les émulsions vibrioniennes étaient chauffées pendant une heure et demie à 55°-56°; la concentration du vaccin était comprise entre 1/2 milliard et 1 milliard de corps microbiens par centimètre cube. On pratiquait deux inoculations successives de 2 et 4 cent. cubes à six jours d'intervalle. Dans certains cas où il fallut aller vite pour éteindre un foyer naissant, les inoculations furent de 3 et 5 cent. cubes et même parfois de 4 et 6 cent. cubes. Même à ces fortes doses, elles furent toujours supportées sans accidents autres que la réaction générale et locale bien connue. Pendant la campagne de Bulgarie de 1913, on pratiqua généralement trois inoculations successives de 1, 2, 3 cent. cubes. L'expérience aussi bien que l'expérimentation nous ont promptement démontré l'importance des fortes doses, indispensables dès qu'il s'agit d'obtenir des résultats rapides, et aussi des injections multiples, la quantité d'anticorps produits croissant avec le nombre d'inoculations successives, contrairement aux affirmations d'Aaser. Le scepticisme que j'ai rencontré chez beaucoup de médecins russes, relativement à l'efficacité de la vaccination anticholérique, provient en partie, je crois, du fait que chez eux la technique vaccinale comportait l'usage de doses trop faibles : trois inoculations successives de 0,5, 1 et 1,5 cent. cube d'un vaccin assez peu concentré. Pour revacciner un individu ayant déjà subi une dizaine de mois auparavant une vaccination complète, il suffit d'une seule inoculation de 3 cent. cubes.

Passons maintenant à l'exposé des observations caractéristiques.

OBSERVATION I (*Campagne de 1913, 1^{er} corps d'armée*). — Le 1^{er} corps d'armée s'infecta en passant à Vratza dans les Bal-

kans. Le premier cas de choléra y apparut le 13 juillet 1913 dans le ...^e régiment d'infanterie; le même jour un grand nombre de cas apparurent dans ce même régiment. Les deux jours suivants une véritable explosion de cas se produisit dans le corps d'armée tout entier. Le 21 juillet on comptait déjà plus de 2.500 cas avec une moyenne de 300 cas nouveaux par jour. On improvisa un hôpital de cholériques à Orhanïa; on arrêta sur place et l'on fit camper le corps d'armée tout entier (50.000 hommes) sur les hauteurs qui entourent cette localité, en ayant soin de bien espacer les bivouacs. La première inoculation de vaccin (1 cent. cube) fut pratiquée sur tout le corps d'armée le 21 juin, la seconde (2 cent. cubes) le 27, la troisième (3 cent. cubes) le 2 août. Entre le 21 et le 27, on nota une certaine baisse dans l'épidémie mais l'on continua à signaler 100 à 200 cas nouveaux par jour: de même dans l'intervalle entre la seconde et la troisième inoculation, les cas nouveaux continuèrent à apparaître dans les mêmes proportions; 120 cas nouveaux furent encore signalés la veille de la troisième injection. Le surlendemain de cette dernière, l'épidémie s'arrêta *tout d'un coup* et l'on ne signala plus que deux cas; un cas le jour suivant, 5 août; le 6 août la morbidité tomba à zéro. L'épidémie fut comme coupée au couteau aussitôt après la dernière inoculation. Depuis ce jour aucun cas nouveau ne s'est plus produit dans le corps d'armée, malgré les fatigues de la marche de retour et les chaleurs excessives.

Parmi les régiments de ce corps d'armée, un seul, le ...^e d'artillerie, avait été vacciné préventivement par son médecin dès la première menace d'épidémie (1); il bivouaquait aux environs d'Orhanïa entouré de régiments contaminés. Dans ce régiment immunisé on ne compta que trois cas de choléra et seulement chez des hommes ayant échappé à la vaccination.

Ces résultats impressionnants ont entraîné immédiatement la conviction des médecins qui prirent part à cette vaste expérience, si démonstrative. L'on observera que si une baisse appréciable se produisit dans l'ensemble du corps d'armée après la

(1) Ce médecin qui sauva ainsi par sa prévoyance tant de vies humaines est notre très regretté confrère et ami le Dr A. Stefanescu, qui perdit la vie le 3 novembre 1919 dans la terrible catastrophe de chemin de fer de Pont-sur-Yonne.

première vaccination, il n'y eut arrêt brusque de l'épidémie qu'après la troisième. L'on constatera d'autre part, en lisant les deux observations qui suivent et qui appartiennent à des régiments faisant partie de ce même corps d'armée, que là, il y eut arrêt brusque également : dans l'un après la seconde, et dans l'autre après la première inoculation. Cette discordance entre le résultat général et les résultats particuliers s'explique ainsi : dans l'ensemble du corps d'armée les inoculations se firent à des doses relativement faibles (1, 2, 3 cent. cubes) ; dans les deux régiments cités, grâce à l'initiative de certains médecins, les injections se firent à doses massives (3 et 5 cent. cubes dans les deux cas). L'avantage qui résulte de l'emploi des fortes doses apparaît là d'une manière frappante.

OBSERVATION II (*Campagne de 1913, ...^e régiment d'infanterie*). — Ce régiment avait été particulièrement surmené par des marches forcées. Son effectif était de 4.500 hommes. Il fut violemment atteint par la maladie dès le début de l'épidémie. En dix jours il présenta 386 cas de choléra avec 166 morts. Le deuxième jour de l'épidémie tous les hommes reçurent une première injection de 3 cent. cubes de vaccin ; une seconde injection de 5 cent. cubes six jours après la première. Dans l'intervalle des deux injections les cas nouveaux se produisirent sans discontinuer et l'on ne signala aucune baisse dans leur nombre. Huit jours exactement après la première inoculation (deux jours après la deuxième) l'épidémie s'arrêta brusquement et le nombre de cas tomba d'un coup à zéro. Aucun cas nouveau ne se produisit par la suite.

OBSERVATION III (*Campagne de 1913, ...^e régiment d'infanterie*). — Le régiment fut atteint dès le début de l'épidémie et présenta pendant les premiers jours 280 cas de choléra avec 120 morts.

Les vaccinations commencèrent au troisième jour de l'épidémie par une première inoculation de 3 cent. cubes. Les jours suivants, les cas nouveaux continuèrent à se produire dans la proportion d'une trentaine par jour. Au sixième jour après la première injection, il y eut un arrêt brusque de la maladie. La deuxième injection de 5 cent. cubes eut lieu le

lendemain. Plus un seul cas ne se produisit dans la suite sauf chez un capitaine qui seul de son régiment avait refusé obstinément de se laisser vacciner. Avant de mourir, il reconnut son erreur et déclara mourir par sa faute.

OBSERVATION IV (*Campagne de 1913, ...^e régiment d'infanterie*). — Ce régiment atteint dès le commencement de l'épidémie présenta pendant les premiers jours 270 cas de choléra avec 28 morts. Le quatrième jour après le début de la maladie les hommes furent vaccinés à la dose de 2 cent. cubes. Les trois jours qui suivirent la première inoculation furent marqués par une augmentation sensible de la morbidité et de la mortalité. La deuxième injection fut pratiquée six jours après la première à la dose de 4 cent. cubes. Quatre jours après cette dernière l'épidémie s'arrêta presque complètement. Cependant on constata encore deux cas nouveaux pendant les quatre jours suivants. Plus un cas ne se produisit à partir du neuvième jour qui suivit la seconde inoculation.

Cette observation est instructive à plus d'un point de vue. Notons d'abord l'aggravation de la morbidité qui suivit la première inoculation. Cette aggravation fut observée dans d'autres régiments encore par différents médecins et ramena l'attention sur la question controversée de la « phase négative » et du danger qu'il y a à vacciner en milieu épidémique. Nous reviendrons sur ce point à la fin de ce travail. D'autre part notons ceci : les doses employées dans ce régiment ne furent ni les doses relativement faibles employées dans l'ensemble du corps d'armée, ni les doses fortes signalées aux observations II et III. Il s'agit ici de doses intermédiaires ; les résultats furent intermédiaires également. L'épidémie s'arrêta presque complètement après la seconde inoculation, mais non pas avec ce caractère de soudaineté que l'on constate dans les deux observations précédentes.

OBSERVATION V (*Campagne de 1913, ...^e régiment de cavalerie*). — Le dépôt de ce régiment comprenant 180 hommes était caserné à Turnu-Magurele sur le Danube. Tous les hommes du dépôt furent vaccinés contre le choléra, sauf 4 (tous quatre ordonnances d'officiers). Il se produisit trois cas de choléra parmi

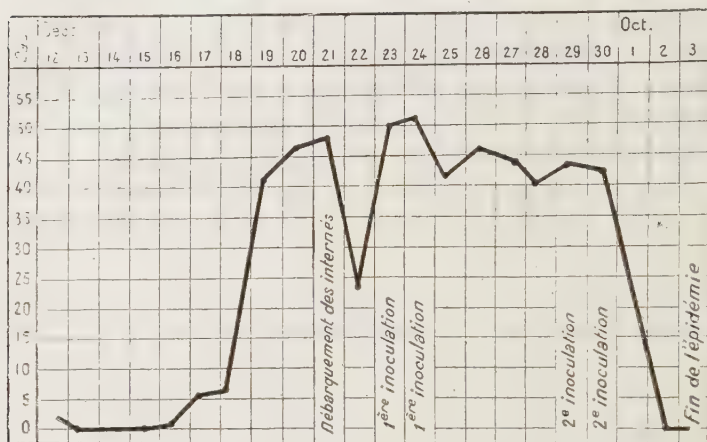
les hommes du dépôt, tous trois parmi les quatre hommes non vaccinés ; aucun cas parmi les autres.

OBSERVATION VI (*Campagne de 1913, ...^e régiment d'infanterie*). — Dès le début de l'épidémie le commandant s'était opposé formellement à ce que son régiment fût vacciné. Ce régiment présenta un nombre exceptionnellement élevé de porteurs de germes : 12 p. 100 à son arrivée à Zimnicea. Il renfermait une proportion considérable de soldats israélites (au nombre de plus de 200) qui exigèrent la vaccination, chose qui leur fut accordée. Le résultat fut le suivant : aucun cas de choléra ne se produisit par la suite parmi les soldats israélites ; il y eut plus de 450 cas dans le reste du régiment.

Cette observation a la valeur d'une véritable expérience de laboratoire.

OBSERVATION VII (*Campagne de 1916, ... camp d'internés de Galatz*). — Au commencement de la campagne 1916, alors que l'on avait encore signalé en Roumanie aucun cas de choléra, un groupe de 6.700 Bulgares et Turcs, de tout âge et de toute condition, habitant la Dobrogea, avait été réuni à Galatz pour être interné dans un camp de concentration ; 3.500 d'entre eux avaient été installés provisoirement à bord de chalands sur le Danube en face de la ville dans des conditions d'hygiène insuffisantes. Ils avaient été amenés à Galatz, par eau, le 6 septembre ; en cours de route un cas de mort suspect s'était produit ; deux autres cas mortels survinrent le 12 septembre, deux autres encore le 17. C'est à ce moment seulement que l'attention des autorités sanitaires fut éveillée. Une rapide enquête démontra qu'il s'agissait de choléra. Le 19, l'épidémie fit explosion et 42 cas de choléra se produisirent ce jour-là. A partir de ce moment l'épidémie s'installa et chaque jour l'on signalait de 40 à 52 cas nouveaux. Des mesures immédiates furent prises. Le groupe entier des internés fut débarqué à Galatz le 21 septembre et installé dans une spacieuse caserne aménagée à cet effet ; trois pavillons furent réservés : l'un pour l'isolement des cas confirmés, l'autre pour l'isolement des malades suspects. Le troisième fut destiné à recevoir les porteurs sains de germes au fur et à mesure que s'accomplissaient les opérations de triage.

Le triage des porteurs de germes ainsi que les inoculations commencèrent aussitôt. L'on pratiqua l'examen des matières fécales du groupe tout entier ; la proportion des porteurs sains fut de 7 p. 100 pour le groupe de 5.500 personnes débarquées des chalands ; ils furent isolés du reste du groupe. Ce triage terminé on le recommença une seconde fois après la fin des vaccinations pour le groupe de ceux qui avaient été reconnus



Campagne de 1916, ... camp d'internés de Galatz.

indemnes ; cette revision permit de retrouver quelques porteurs de germes qui avaient échappé à un premier examen.

Cependant les cas de choléra ne discontinuaient pas : une baisse sensible s'était produite le jour de l'encasernement des internés, probablement du fait qu'ils avaient été installés dans des conditions de confort meilleures. Mais dès le lendemain l'épidémie reprenait son cours. La mortalité était de 75 p. 100 sur le nombre total des malades et portait dans la proportion de 3/4 sur les internés turcs, plus sensibles au choléra que les Bulgares.

La première série d'inoculations pour le groupe tout entier se fit le 23 et le 24 septembre avec 2 cent. cubes de vaccin. Aucune amélioration générale ne fut notée pendant les jours qui suivirent immédiatement ; aucune aggravation non plus ; la seconde série d'inoculations eut lieu le 29 et le 30. Le 30 l'on

signala encore 37 cas nouveaux. Le surlendemain, 2 octobre, l'épidémie s'arrêta brusquement et tomba à zéro. Plus aucun cas ne se reproduisit dans la suite.

Cette observation si démonstrative gagne encore en intérêt, lorsque l'on suit le sort ultérieur de ces internés turco-bulgares. Maintenus pendant plusieurs semaines encore dans leur caserne, un mois après l'extinction totale du choléra, une brusque épidémie d'entérite accompagnée de fièvre et de diarrhée se déclara parmi eux. Il y eut 150 malades et 8 morts. Chez aucun de ces malades on n'isola de vibrions cholériques; les recherches faites à l'autopsie demeurèrent également négatives. Le tableau clinique et anatomo-pathologique n'avait rien de commun avec celui du choléra. Il s'agissait de cas d'intoxication alimentaire consécutifs à l'usage d'aliments avariés. Cette épidémie s'arrêta rapidement par les traitements usuels et aucun cas de choléra ne se produisit à cette occasion. Plus tard, par suite de l'avance des armées ennemies, tout le groupe des internés fut transporté dans le nord de la Moldavie; le transport s'effectua par un froid rigoureux dans des conditions de confort détestables. Dans leur nouveau séjour ces internés payèrent un lourd tribut aux épidémies intercurrentes, typhus exanthématique et fièvre récurrente. Malgré ces misères le choléra ne reparut plus jamais parmi eux; jamais les examens bactériologiques répétés ne révélèrent la présence de porteurs de germes. La vaccination avait définitivement protégé leur organisme contre l'infection vibrionienne.

OBSERVATION VIII (*Campagne de 1916, ...^e régiment d'infanterie*. — Au début de septembre, 1.200 recrues quittent la ville de Slatina où l'on n'avait signalé jusque-là aucun cas de choléra. Ils s'embarquèrent pour Galatz, dans un train qui venait d'amener des contingents russes; ceux-ci avaient souillé les wagons de toute façon et le train était dans un état de malpropreté peu ordinaire. On n'eut pas le temps de le désinfecter avant l'embarquement des recrues. Après l'arrivée de ces dernières à Galatz, un cas de choléra se produisit parmi elles, exactement quatre jours après le départ. Un examen sommaire pratiqué aussitôt sur quelques-uns des hommes pris au hasard fit découvrir la présence de porteurs de germes. Le lendemain se

produisirent trois nouveaux cas mortels; le surlendemain sept cas mortels. L'épidémie croissait rapidement. Ce jour même l'on pratiqua chez tous les hommes une première injection massive avec 4 cent. cubes de vaccin et trois jours après une deuxième injection avec 6 cent. cubes de vaccin; trois nouveaux cas mortels se produisirent dans cet intervalle de trois jours. L'épidémie s'arrêta brusquement le jour de la seconde inoculation. Aucun cas nouveau de choléra ne se produisit dans la suite. Les doses massives avaient jugulé l'épidémie. Ce fut seulement le lendemain de la seconde inoculation, alors que l'on avait paré au danger, que l'on pratiqua systématiquement l'examen microbiologique des matières fécales chez tous les hommes; on isola le vibrion cholérique chez 145 d'entre eux; ce qui donna une proportion de 12 p. 100 de porteurs de germes.

Notons dans cette observation : 1° le temps d'incubation que l'on doit estimer à trois ou quatre jours, le régiment s'étant probablement infecté dès le premier jour de son embarquement; 2° la rapidité avec laquelle ont agi les doses massives, puisque l'épidémie était arrêtée trois jours après la première inoculation; 3° l'inocuité des doses massives, bien que l'on eût mis un intervalle de trois jours entre la première et la seconde injection.

OBSERVATION IX (*Campagne de 1916, Hôpital de contagieux de campagne N° 2*). — Pendant l'épidémie de typhus exanthématique, alors que le choléra avait disparu de l'armée roumaine, cet hôpital soignait des militaires atteints de typhus appartenant indifféremment aux armées roumaine et russe; les malades des deux armées alliées étaient confondus dans les mêmes salles. Les Roumains étaient vaccinés contre le choléra; les Russes ne l'étaient pas. Un typhique russe, entré probablement en incubation de choléra, fit, étant à l'hôpital, une attaque de choléra mortelle; pendant les jours qui suivirent de nombreux cas de choléra éclatèrent parmi les malades ou convalescents russes avec une mortalité de 40 p. 100. L'examen microbiologique des matières fécales pratiqué chez tous les malades de l'hôpital décela la présence du vibrion cholérique chez un très grand nombre d'entre eux, russes ou roumains. Seuls les Russes furent atteints de la maladie; aucun cas, même sus-

pect. ne se produisit parmi les Roumains, sauf chez un sergent sanitaire qui, ainsi que le démontra l'enquête, avait réussi à se soustraire à la vaccination préventive. Observation des plus démonstratives, présentant elle aussi toute la valeur d'une expérience de laboratoire (1).

OBSERVATION X (*Campagne de 1916, hôpital de contagieux de campagne N° 5*). — A Vaslui, le choléra éclata dans un dépôt de 750 réfugiés et vagabonds appartenant à cette classe d'errants sillonnant les routes, qui furent si nombreux au moment de la déroute; 53 cas de choléra se produisirent dans ce dépôt, et l'on constata la présence de 130 porteurs de germes parmi ceux qui ne furent pas atteints. Malades et porteurs de germes furent isolés dans l'aile vide d'une caserne dont l'autre aile était occupée par de vieux réservistes au nombre de 550 mélangés à quelques jeunes recrues. L'isolement ne fut pas étanche; il y eut contact entre les porteurs de germes et les soldats occupant la caserne : en effet 7 cas de choléra ne tardèrent pas à se produire parmi ces derniers. Une enquête minutieusement faite nous démontra qu'aucun cas de choléra ne se produisit parmi les réservistes qui tous avaient été vaccinés et que les sept malades étaient des recrues qui n'avaient pas encore subi la vaccination.

OBSERVATION XI. — Au début de la campagne de 1916, nous eûmes à déplorer au laboratoire, où nous préparions les vaccins, la mort, par suite d'une attaque de choléra suraiguë, d'un vieux garçon de laboratoire, employé à la stérilisation des ballons ayant contenu les cultures. Tout notre personnel avait été vacciné préventivement. Après enquête, nous apprîmes que le garçon en question avait réussi à se soustraire à la vaccination au su de tous ses camarades qui n'avaient pas voulu le dénoncer.

(1) Cette association du typhus exanthématique et du choléra a été observée à plusieurs reprises au début de la campagne. Quand le choléra éclate chez un typhique à la période d'état, le tableau clinique du choléra se substitue à celui du typhus : chute brusque de la température dès le début des symptômes cholériques, algidité, cyanose, diarrhée classique, crampes. Tous les cas de choléra survenus en pleine période d'état du typhus ont été mortels.

Les quelques observations qui précèdent suffisent par leur netteté pour établir solidement la haute valeur des vaccinations anticholériques. Les résultats d'une vaccination consciencieusement appliquée sont d'une évidence telle que l'on a peine à s'expliquer le scepticisme tenace dont fait preuve E. Friedberger dans un travail récent (1), où il se trouve d'ailleurs en contradiction avec l'opinion généralement professée en Allemagne par les expérimentateurs qui se sont occupés de la vaccination anticholérique. Friedberger doute que la diminution de la morbidité au cours d'une épidémie de choléra puisse être due à la vaccination. Pour être convaincu du contraire il suffit de se reporter aux observations citées plus haut et de constater à quel point les individus vaccinés préventivement sont devenus réfractaires au choléra, qui atteint par contre les individus témoins. Les observations 5, 6, 9 et 10 sont, à ce point de vue, absolument caractéristiques.

Et maintenant nous possédons des éléments suffisants pour répondre à la question souvent posée : Faut-il vacciner contre le choléra en plein foyer épidémique? N'y a-t-il pas lieu de redouter que la vaccination, en sensibilisant l'organisme en puissance de germes, ne déclenche l'attaque de choléra? La résistance de l'individu qui vient d'être inoculé ne passe-t-elle pas pendant les premiers jours par une phase négative qui l'expose plus qu'un autre au danger de l'infection?

Cette phase négative, qui théoriquement devrait correspondre à un abaissement momentané de la teneur du sang en anticorps spécifiques, n'existe pas, si l'on s'en rapporte à l'expérimentation sur l'homme et les animaux. MM. Lupu et Balteano, dans un travail déjà cité, ayant suivi jour par jour l'évolution des anticorps du sang chez des soldats en voie de vaccination, ont constaté que ces anticorps (agglutinines, précipitines, sensibilisatrice) ne baissent pas, du moins d'une façon appréciable, dans le sang, à l'occasion d'une nouvelle injection sous-cutanée d'antigène. Une constatation analogue fut faite par G. Bessau et B. Paetsch (2) chez des lapins vaccinés contre le choléra;

(1) E. FRIEDBERGER. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, I. Origin. 1919, p. 119 et 185.

(2) G. BESSAU et B. PAETSCH. Ueber die negative Phase. *Centr. f. Bakt.*, I. Origin. t. 63, p. 67.

chez ces animaux, ni les agglutinines ni les bactériolysines du sérum ne semblent diminuer à la suite d'une nouvelle injection intraveineuse d'antigène. Peut-être la conclusion qui consisterait à déduire de là la non-existence d'une phase négative dépasse-t-elle les conditions de l'expérience. Si, comme cela semble probable aujourd'hui, l'immunité active contre le choléra est avant tout une immunité de l'intestin grêle, il est possible qu'une injection d'antigène cholérique détermine passagèrement une atténuation de cette immunité locale. Nous manquons à ce point de vue de données expérimentales et c'est là un point qu'il sera intéressant d'éclaircir. Certains faits d'observation tendent à prouver qu'il pourrait en être ainsi. Plusieurs médecins affirment avoir observé au cours des vaccinations pratiquées pendant la campagne de Bulgarie une augmentation du nombre et de la gravité des cas de choléra pendant les deux à trois jours qui suivirent immédiatement la première injection vaccinale. Notre observation N° 4 parle dans le même sens. Je puis citer l'observation de deux femmes, en apparence bien portantes, qui, ayant reçu une injection de 2 cent. cubes de vaccin, firent, l'une six heures, l'autre dix heures après l'inoculation, une attaque sévère de choléra. Ces femmes étaient sans doute en état d'incubation; il n'en est pas moins vrai que l'inoculation semble avoir déclenché chez elles l'infection latente. Par quel mécanisme? Nous l'ignorons. Le vaccin cholérique, en vertu de son entérotropisme, détermine une irritation et une congestion de la muqueuse de l'intestin grêle. L'expérimentation chez le cobaye le démontre. Au cours de la « maladie vaccinale » chez l'homme on note parfois des crampes intestinales légères. Or toute irritation de la muqueuse intestinale peut ouvrir une porte à l'invasion vibrionienne. Il n'est donc pas impossible théoriquement que la « phase négative » existe, jusqu'à un certain point, pour l'intestin. Mais dans la pratique il n'y a pas lieu d'en tenir compte et les accidents restent malgré tout absolument exceptionnels. Un premier point est à relever : Si parfois l'on a eu l'occasion de noter des réactions de ce genre après l'emploi de doses moyennes de vaccin, jamais nous ne les avons observées à la suite d'injections massives. L'observation n° 8 est à ce point de vue caractéristique : On n'a pu relever rien de semblable parmi les 4.200 hommes

inoculés avec 4 et 6 cent. cubes de vaccin, malgré la proportion considérable (12 p. 100) de porteurs de germes que renfermait le groupe. Pendant l'épidémie de 1913, MM. Slatineano et Jonesco Mihaiesti (1) ont systématiquement expérimenté les effets du vaccin sur un groupe de 375 porteurs sains de vibrions. Aucun de ces hommes ne manifesta, au cours des vaccinations, de phénomènes réactionnels autres que les manifestations classiques de la maladie vaccinale ; aucun ne prit le choléra. Ces expérimentateurs ont pu d'ailleurs établir, en suivant pendant plusieurs jours leurs sujets d'expérience, que la vaccination n'exerçait aucune action sur l'élimination des germes. N'oublions pas que l'une des conséquences les plus caractéristiques des vaccinations pratiquées en plein foyer épidémique est la soudaineté dans l'arrêt de l'épidémie quelques jours après l'injection du vaccin. Le résultat général des vaccinations anticholériques est là pour nous prouver que, loin de s'arrêter à de vaines considérations théoriques, il est *nécessaire* de pratiquer les vaccinations même en plein foyer épidémique. La guérison de l'épidémie est à ce prix, à condition toutefois, comme il est de règle de le faire, d'exclure de la vaccination les individus atteints de lésions évidentes du myocarde, du foie ou des reins. Il serait tout aussi absurde de renoncer, pour des craintes hypothétiques, à la sérothérapie antidiphthérique par crainte des accidents anaphylactiques. La leçon de choses qui se dégage de toute l'histoire des vaccinations anticholériques est qu'en médecine aucune théorie, si séduisante fût-elle, ne vaut une bonne expérience.

..

Les conclusions pratiques de ce travail sont les suivantes :

1° L'efficacité de la vaccination préventive contre le choléra au moyen de corps microbiens chauffés est certaine. Il n'existe pas de méthode plus sûre pour mettre l'individu à l'abri de l'infection cholérique ; il n'en existe pas de plus sûre non plus pour éteindre sur place un foyer naissant. La caractéristique de son action dans ce dernier cas est la soudaineté avec laquelle

(1) A. SLATINEANO et C. JONESCO MIHAESTI. *C. R. Soc. Biol.*, t. 76, 1914, p. 698.

l'épidémie est arrêtée, à la condition expresse que les inoculations aient été pratiquées à doses suffisantes ;

2° L'emploi de fortes doses s'impose et les résultats obtenus diffèrent considérablement selon les quantités de corps microbiens injectés ; trois à quatre milliards de corps microbiens sont nécessaires pour réaliser une solide vaccination préventive. Pour éteindre rapidement un foyer naissant, il est utile d'inoculer de quatre à cinq milliards de corps chauffés, sans craindre de réduire à quatre ou cinq jours l'intervalle entre deux vaccinations successives ;

3° Si, théoriquement, la question de la phase négative n'est pas encore résolue, dans la pratique l'expérience nous enseigne à n'en pas tenir compte. Il faut vacciner en milieu épidémique. C'est la condition *sine qua non* pour éteindre rapidement une épidémie ;

4° L'immunité locale de l'intestin joue, dans la défense de l'organisme, un rôle considérable. Elle semble se constituer dans cet organe avant d'apparaître dans la circulation générale.

TECHNIQUE

D'IDENTIFICATION DES GERMES PYOCYANIQUES

par C. GESSARD

Seize types de germes pyocyaniques résultent de la division de l'espèce en quatre variétés subdivisées chacune en quatre races (1); ils se peuvent différencier et reconnaître par les colorations que leurs cultures font apparaître dans trois milieux distincts : bouillon, eau peptonée, eau peptonée glycélinée constituée en milieu solide par l'addition de gélose. Je traiterai de ces milieux et de la contribution de chacun d'eux au diagnostic; je suivrai pour cela l'ordre où l'on devrait les faire se succéder à l'expérimentation, s'il ne paraissait plus expédient de les essayer simultanément, puisque aussi bien aucun d'eux isolément ne suffit à résoudre le problème d'identification, proprement à trois inconnues : l'espèce, la variété, la race. Je me place en effet, pour cette étude, toute circonscrite qu'elle soit au bacille pyocyanique, dans l'hypothèse du cas le plus ordinaire, où l'on ignore tout du microbe à déterminer, et son espèce en première ligne.

Bouillon.

On ne contrevient pas à l'usage qui donne le premier rang au bouillon pour les essais microbiens. Il faut seulement souligner que, pour nos recherches, c'est le bouillon simple, c'est-à-dire le produit d'une demi-heure de décoction de muscle de bœuf ou de veau, pour un rendement double du poids de la viande, sans nulle autre addition que de soude pour neutraliser. Un germe se révèle d'espèce pyocyanique en ce milieu, de même qu'en tout autre, par la production de pyocyanine

(1) Classement des germes pyocyaniques par les pigments. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 82, 1919, p. 795.

reconnaissable à la vue et confirmée par la belle couleur bleue que prend le chloroforme agité avec la culture. Suivant le germe la pyocyanine peut se montrer seule : le bouillon est alors vert mat, vert d'eau, sinon de teinte bleue plus prononcée ; ou elle est accompagnée du pigment vert fluorescent, d'où résulte un éclat particulier du bleu vert de la culture dans la lumière réfléchie. Ces différents aspects, respectivement maintenus dans les cultures de ces deux sortes de germes et invariablement perpétués par leurs descendants à travers d'innombrables passages dans ce même milieu, sont le fondement de la distinction de races : race A, race-type, race normale et la plus complète, dont les autres races sont des dégradations, pour les germes qui produisent les deux pigments à la fois ; race P, pour les germes qui font exclusivement de la pyocyanine.

A des germes pyocyaniques non moins authentiques, mais de races différentes, peuvent être dus dès aspects des cultures en bouillon où l'espèce ne saurait pourtant être reconnue faute du pigment caractéristique, la pyocyanine : c'est le cas des germes de race F, qui ne communiquent aux cultures que du vert fluorescent, lequel disparaît à la lumière artificielle, tandis qu'y persiste le vert mat ou le bleu vert de la pyocyanine quand il y a de ce pigment mélangé avec la fluorescence comme nous avons vu en A ; c'est encore le cas des germes de race S, qui ne montrent aucun pigment, rien qu'un trouble blanchâtre dans la culture en bouillon. Et c'est pour l'une et l'autre race une égale impossibilité de les distinguer, dans ce milieu, de tant d'espèces microbiennes fluorescentes ou sans pigment comme elles. Toutefois, la recherche pourra s'éclairer souvent d'un indice recueilli au cours des cultures, qui n'est pas à dédaigner, si l'on n'y doit pas attacher une trop grande importance : c'est l'odeur, caractère trop contingent d'abord et ensuite d'appréciation trop subjective pour qu'il fournisse à la recherche plus qu'une orientation, l'odeur aromatique particulière aux cultures pyocyaniques, qu'on ne saurait oublier quand on l'a perçue une fois. Mais c'est à un autre milieu qu'il faut demander des notions plus précises et le complément nécessaire des données où se borne l'essai en bouillon.

Eau peptonée.

On a recours alors à l'eau peptonée : solution de peptone pancréatique à 2 p. 100, neutre ou légèrement alcaline. Comme les races sont issues des aspects différents de longues suites de cultures en bouillon, la distinction de variétés s'est fondée sur les différences de coloration de séries de cultures en eau peptonée. C'est la variété pyocyanogène Pe correspondant au bleu de la pyocyanine dans la culture; la mélanogène M, ainsi nommée de la mélanine apparente encore dans certains milieux, si, dans l'état actuel des germes, du rouge brun seulement se montre en eau peptonée; c'est l'érythrogène E pour le pigment rouge dont le premier état est jaune verdâtre; enfin, l'achromogène O correspond à l'absence de pigment, à un simple trouble incolore ou gris jaunâtre, gris sale du milieu en question. Ces quatre variétés caractérisées en peptone comprennent des germes des quatre races par rapport au bouillon; en d'autres termes, les races constituées au regard du bouillon ne diffèrent pas avec les variétés, et les réactions de leurs germes dans ce bouillon ne laissent rien présumer de la façon dont ils réagiront en peptone.

Quand ces diverses colorations dans l'eau peptonée se rapportent à des germes qui donnent les pigments des races A et P dans le bouillon, c'est-à-dire pyocyanine et vert fluorescent d'une part, pyocyanine seule d'autre part, le diagnostic est acquis avec ces deux milieux sans plus. Ces races en effet, par la pyocyanine qui leur appartient en commun, ont dénoncé l'espèce, et la variété seule restait à découvrir, que vient révéler l'eau peptonée. Ainsi sont reconnus, dès cet instant, les germes pyocyaniques PeA, PeP, MA, MP, EA, EP, OA, OP (1).

Le diagnostic n'est pas moins certain quand la coloration bleue de la variété pyocyanogène se rapporte à des germes qui donnent les réactions des races F et S dans le bouillon. Car la

(1) Je rappellerai que, selon la nomenclature adoptée (ces *Annales*, t. 33, 1919, p. 258), la première lettre dans ces formules représente la variété; la seconde, la race. La variété achromogène, postérieure à cette publication des *Annales* (*C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. 168, 1919, p. 1066), a été désignée par la lettre O (Voir le tableau de classement ci-après).

notion de l'espèce, qui faisait défaut dans ce dernier milieu, résulte, avec celle de la variété, de la production de la pyocyanine en eau peptonée. Dès lors sont caractérisés les germes pyocyaniques PeF, PeS.

C'est dans le délai de six jours en moyenne qu'on peut observer le pigment de la variété plus ou moins diffusé dans le liquide. A ce terme, il peut ne former encore qu'une zone surmontant la culture jaune verdâtre, verdâtre ou vert bleuté, suivant la combinaison pigmentaire en jeu. A un terme plus avancé, quand le pigment de la variété a envahi toute la culture, sa limitation apparente à la zone superficielle tient à ce qu'il est réduit et décoloré dans les couches profondes dépouillées d'oxygène.

En rapport avec les réactions des races F et S dans le bouillon, la production des pigments des variétés mélanogène et érythrogène dans l'eau peptonée laisse le diagnostic incomplet, à moins que de la pyocyanine simultanément produite ne permette d'authentifier conjointement l'espèce. Le fait dépend d'une aptitude éventuelle du germe essayé et peut alors consister dans une apparition éphémère du pigment spécifique, qui précède la formation de la zone rouge brun ou rouge du pigment de la variété, pour la manifestation duquel nous avons dit qu'un délai de six jours peut être nécessaire. L'observation de la culture à diverses reprises dans cet intervalle de temps peut saisir le phénomène fugace. Faute de quoi, quand cette révélation a manqué du fait de germes à prédominance mélanogène ou érythrogène, ou qu'elle a échappé à l'observation défailante, quand la culture peptonée est complètement envahie par le pigment de la variété, le battage des liqueurs rouge brun et rouge avec le chloroforme peut démasquer la pyocyanine qui s'est dérobée jusque-là. Ainsi peuvent être, dès cet essai même, caractérisés les germes pyocyaniques MF, MS, EF, ES.

Mais des germes peuvent se rencontrer qui produisent dans l'eau peptonée le pigment de la variété à l'exclusion de toute pyocyanine décelable à la vue ou à l'extraction chloroformique. Dans ce cas, le troisième milieu seul peut dire s'il s'agit effectivement de germes appartenant à l'espèce pyocyanique.

Jusqu'à cette dernière épreuve subsiste aussi le doute que laisse la culture en eau peptonée quand d'autre part, dans le

délai susdit, s'est maintenu le trouble sans aucun pigment avec des germes qui n'ont montré que vert fluorescent ou absence de pigment dans le bouillon. Il reste incertain s'il s'agit de représentants de l'espèce pyocyanique de la variété O ou de quelqu'un des nombreux microbes qui sont fluorescents ou sans pigment dans le bouillon et incolores dans la peptone. L'essai sur gélose-peptone glycérinée peut seul décider.

Gélose-peptone glycérinée.

Le troisième milieu n'a d'emploi que dans le cas, en somme assez rare, où la notion d'espèce n'est pas résolue par les essais en bouillon et en eau peptonée. Il est fait de cette même eau peptonée, seulement glycérinée et par addition de gélose amenée à la consistance solide sur plan incliné (1), toutes conditions propres à faire produire de la pyocyanine par tous les germes pyocyaniques, de quelque variété et race qu'ils soient, quoiqu'ils aient produit par conséquent dans les autres milieux. Ce serait donc le milieu à expérimenter d'abord, abstraction faite de tout autre, s'il ne s'agissait que d'établir la nature pyocyanique des seize types de germes qui se peuvent rencontrer (2). Dans le rang assigné ici à son emploi, après

(1) Je reproduirai ici la formule et le mode de préparation si avantageux que j'applique depuis trente ans, à la légère modification près que, dans ces tout derniers temps, j'ai apportée au titre de la gélose. Cette gélose est divisée aux ciseaux en menus tronçons d'environ 6 millimètres de long. On en prend un poids calculé sur le nombre de tubes à préparer, à raison de 0 gr. 20 par tube; on en fait, à vue d'œil, le partage en doses de 0 gr. 20. Chaque tube reçoit une dose, plus V gouttes de glycérine, plus 5 cent. cubes d'eau peptonée à 2 p. 100, neutralisée comme il convient, mais sans le souci d'en précipiter dès là et d'en séparer les sels, qui ne seront pas une gêne. Les tubes sont alors maintenus au bain-marie bouillant pendant une demi-heure; puis portés à l'autoclave à 120° pendant quinze minutes. Ils sont ensuite mis à refroidir inclinés. C'est, comme on voit, dans le moindre temps et avec le moins d'embarras par la suppression de toute filtration, de toute manipulation de produit visqueux, et de la température qui y est nécessaire, grâce aussi au minimum de chauffe, la réalisation du milieu le moins coloré, partant le mieux approprié encore qu'un peu trouble, s'agissant non de dénombrer et d'analyser des colonies dans sa masse, mais de faire ressortir sur son opalescence grise une couleur uniformément répartie en surface. Pour cela l'ensemencement est fait de III gouttes de culture liquide, bouillon ou peptone, qui sont étalées régulièrement à la baguette de platine ou de verre.

(2) Treize de ces types sont de fait acquis (Races de la variété pyocyanogène, ces *Annales*, t. 5, 1891, p. 65; races de la mélanogène, ces *Annales*, t. 5, 1901, p. 826; races de l'érythroène, ces *Annales*, t. 33, 1919, p. 259; races

l'essai dans les autres milieux, la gélose-peptone glycérinée n'a plus affaire qu'à un petit nombre de germes laissés indéterminés par le bouillon et l'eau peptonée : à savoir les germes des réactions F et S en bouillon correspondant aux réactions M, E, O, en eau peptonée, soit six germes au plus. Encore avons-nous vu que parmi les germes MF, MS, EF, ES, certains sont capables de donner la réaction pyocyannique à côté du pigment de la variété en eau peptonée. Dans ce cas, la gélose-peptone glycérinée n'est plus nécessaire que pour les deux représentants de la variété achromogène OF, OS.

Quand la prédominance du pigment de la variété ne laisse pas place à la production de la pyocyanine dans l'eau peptonée ou qu'elle en offusque la faible quantité produite, la manifestation du pigment spécifique peut être également masquée sur la gélose-peptone glycérinée. La macération de la masse gélifiée dans le chloroforme suffit alors à extraire en très peu de temps la moindre quantité de bleu nécessaire et suffisante à authentifier l'espèce. Dans tous les autres cas, c'est un beau bleu qui recouvre la surface du milieu solide, contrastant singulièrement avec l'absence de tout pigment constatée jusque-là quand il s'agit d'un germe OS, permettant d'autre part d'interpréter la fluorescence et de classer également pyocyannique un germe OF, dûment reconnu race F de la variété achromogène.

Le fait est sans doute suggestif qu'une propriété chromogène fondamentale telle que celle de l'espèce pyocyannique puisse, en raison de sa dépendance des germes et des milieux, rester méconnue, comme c'est le cas avec OS, durant des séries multipliées de générations et de milieux (1). Trouverait-on mieux que ces jeux de couleurs pour illustrer les propres variations des agents pathogènes ?

de l'achromogène, *C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. 168, 1919, p. 1067). Quant aux trois types qui ne sont pas venus encore entre nos mains : les P des variétés achromogène et érythrogène, S de l'érythrogène, l'exemple de la variété pyocynogène, où les races homologues ont été obtenues à partir du germe de race-type A, ne laisse pas douter de la possibilité de les réaliser expérimentalement de la même manière, s'il n'arrivait pas quelque jour de les rencontrer dans la nature.

(1) Le milieu synthétique salin où j'ai eu souvent recours, qui se prête aux diverses manifestations pigmentaires des germes pyocyaniques, mais dont je n'ai pas voulu compliquer cet exposé, ne se colore pas plus que le bouillon et l'eau peptonée par la culture de ce germe OS.

*
*

On ne saurait trop insister sur la remarque que la classification indiquée dans ce travail est fondée sur l'état actuel des germes de nos collections et sur les propriétés des bacilles pyocyaniques qui se trouvent le plus ordinairement. Cependant, des germes pourraient encore se rencontrer, doués par exemple comme ceux des variétés M et E au moment de leur découverte, que j'ai décrits dans ces *Annales*, t. **33**, 1919, p. 247. C'est alors le pigment de la variété débordant la peptone, empiétant sur le bouillon, pouvant prédominer dans l'un et l'autre milieu au point que pendant un long temps n'apparaisse nulle trace du pigment spécifique. Une longue suite de cultures en série a abouti à faire reparaitre la pyocyanine à côté de la mélanine, d'abord seule visible, dans le cas étudié par M. Radais. La même technique devrait être appliquée en pareille occurrence dans les divers milieux que j'indique, entremêlée d'essais fréquents par le chloroforme des cultures successives, d'aspect même le moins congruent en apparence à l'espèce, sous quoi peut toujours, en effet, se dissimuler le pigment spécifique.

Le tableau ci-contre, résumé du présent travail, réunit sur une ligne horizontale les données fournies par chaque milieu de culture pour servir à la reconnaissance de chacun des seize germes pyocyaniques.

TABEAU pour la recherche et le classement des germes pyocyaniques.

TROIS MILIEUX CONCURENT A DÉTERMINER ESPÈCE, VARIÉTÉS, RACES :

- I. Le **bouillon**, base de distinction des races — avec certains germes il authentique l'espèce;
- II. L'**eau peptonée**, base de distinction des variétés — suivant les germes elle double ou supprime le bouillon pour authentifier l'espèce;
- III. La **gélase-peptone glycinée** — elle authentique l'espèce avec tous les germes.

I. BOUILLON		II. EAU PEPTONÉE		GERMES IDENTIFIÉS	III. GÉLOSE PEPTONE GLYCÉRINÉE COLORATION	GERMES IDENTIFIÉS	MILIEU ou l'espèce se décide	O GERMES NON PYOCYANQUES
COLORATION	CONCLUSION	COLORATION	CONCLUSION					
Bleu de pyocyanine + vert fluorescent	Bac. pyoc. de race A.	Bleu de pyoc. Rouge brun. Rouge. Nulle.	Var. pyocyanogène, Pe. — mélanogène, M. — érythrogène, E. — achromogène, O.	PeA MA EA OA	" " " "	" " " "	I — — —	
Bleu de pyocyanine.	Bac. pyoc. de race P.	Bleu de pyoc. Rouge brun. Rouge. Nulle.	Pe. M. E. O.	PeP MP EP OP	" " " "	" " " "	— — — —	
Vert fluorescent.	Race F (1).	Bleu de pyoc. Rouge brun. Id. + Bleu. Rouge. Id. + Bleu. Nulle.	Bac. pyoc. de var. Pe. Var. M (2). B. pyoc. de var. M. Var. E (2). B. pyoc. de var. E. Var. O (2).	PeF MF EF "	Bleu de pyocyan. (3). " Bleu de pyocyanine. " Bleu de pyocyanine. {Nulle.	MF " EF " OF {	II III III II III { Bac. à pigment vert fluorescent.	
Nulle	Race S (1).	Bleu de pyoc. Rouge brun. Id. + Bleu. Rouge. Id. + Bleu. Nulle.	B. pyoc. de var. Pe. Var. M (2). B. pyoc. de var. M. Var. E (2). B. pyoc. de var. E. Var. O (2).	PeS MS MS ES "	Bleu de pyocyanine. " Bleu de pyocyanine. " Bleu de pyocyanine. {Nulle.	MS " ES " OS {	II III III II III B. sans pigment.	

(1) Pour les germes avérés pyocyaniques par ailleurs (en II ou en III).

(2) Pour les germes avérés pyocyaniques en III.

(3) Cette annotation serait à mise à chaque ligne de cette colonne III, en regard de chaque germe de la colonne précédente; pour ne pas charger inutilement le tableau; elle a été réservée aux cas où le diagnostic y est directement intéressé, n'étant complété que par cette dernière donnée. Il n'est pas non plus fait mention, dans la colonne II, en regard des races A et P, de l'association possible du bleu de la pyocyanine aux pigments des variétés M et E, parce que, le pigment spécifique étant apparu dans le bouillon avec ces races, sa présence dans l'eau peptonée fait double emploi et dès lors n'a pas pour le diagnostic l'intérêt qu'elle offre au contraire en regard des races F et S où elle est en effet notée.

Bacilles pyocyanoïdes.

Comme il ressort à première vue du tableau ci-dessus, c'est la moitié des germes seulement pour qui l'espèce, décelée par la production de pyocyanine, peut être authentiquée dans la culture en bouillon (I). L'eau peptonée (II) supplée le bouillon pour les autres germes. Deux de ceux-ci cependant, les germes correspondant aux notations OF et OS, sont réfractaires à cette épreuve et nécessitent toujours de recourir au troisième milieu, la gélose-peptone glycinée (III). Mais il peut arriver que ce milieu aussi fasse défaut et qu'ainsi des germes présumés pyocyaniques, ne donnant plus de pyocyanine dans aucun milieu, s'excluent définitivement de l'espèce pyocyanique.

Cependant on n'aura pas d'ordinaire entrepris cette recherche et poussé jusqu'à ce dernier terme les essais en vue de l'identification pyocyanique, d'après le seul aspect de la culture initiale en bouillon, laquelle, de fluorescence verte ou sans pigment, est assez peu caractéristique; mais cette même culture aura présenté aussi, le plus souvent, l'odeur aromatique à laquelle j'ai déjà fait allusion, particulière à l'espèce pyocyanique, et qui aura contribué à donner cette orientation aux recherches. C'est en tout cas cette association de caractères : aspect, et odeur des cultures avec défaut de pyocyanine dans tous les milieux, qu'ont montrée des germes échus à diverses reprises au laboratoire et dont j'ai dû un échantillon, en dernier lieu, à l'obligeance de M. le D^r Cayrel. On considérerait déjà ces germes comme des bacilles pyocyaniques dégénérés.

Cette opinion trouve désormais un appui dans le fait que, par dégradation progressive de bacilles pyocyaniques authentiques (1), j'ai obtenu des types analogues. Mais pour certifier l'origine pyocyanique, on fera naturellement quelque différence entre les germes venus du dehors sans antécédents connus et ceux qui résultent d'expériences suivies de bout en bout. La réaction d'ordre biologique qu'a instituée M. Launoy

(1) Sur les bacilles pyocyanoïdes. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. 170, 1920, p. 298.

confond au contraire les microbes des deux provenances et les assimile aux bacilles pyocyaniques normaux.

M. Launoy (1) a préparé, avec la protéase d'une culture pyocyanique comme antigène, un sérum qui est empêchant de l'action protéolytique sur la gélatine à l'égard de tous les germes, à quelque race ou variété qu'ils appartiennent, de l'espèce pyocyanique, et de cette espèce seule, à l'exclusion des autres espèces liquéfiantes. Nos germes, pour dégradés qu'ils soient au point de vue chromogène, n'ont pas moins gardé d'ordinaire leur diastase liquéfiante intacte et ils se prêtent donc à l'essai susdit. Le sérum de M. Launoy s'est montré efficace aussi bien sur l'échantillon de M. Cayrel que sur les microbes qui se sont dégradés sous mes yeux, non moins que sur les bacilles pyocyaniques légitimes.

Cependant, c'est la production de pyocyanine qui caractérise avant tout les bacilles pyocyaniques proprement dits. J'ai donc appelé pyocyanoides ces bacilles qui ne font pas de pyocyanine, mais qui ont de commun avec les premiers la sensibilité au sérum spécifique mentionné. Ainsi se trouve fixé le diagnostic, dans le temps qu'exclu du cadre pyocyanique et désormais aux prises avec la foule innombrable des bacilles fluoresci-gènes ou achromogènes, il sollicite de nouvelles expériences.

L'expérience avec le sérum antiprotéasique est la première à tenter, toutes les fois que la recherche méthodique que je suggère aura conduit aux conclusions de la colonne O du tableau. Positive, elle classera l'organisme à l'étude, selon qu'il aura fait ou non de la fluorescence verte en bouillon, comme représentant de l'une des deux seules races que comportent les bacilles pyocyanoides et qui sont désignées par les lettres F et S, pyocyanotide F ou pyocyanotide S.

(1) LAUNOY, Sur l'antiprotéase du bacille pyocyanique. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 82, 1919, p. 263.

ÉTUDES SUR LE PNEUMOCOQUE

DIXIÈME MÉMOIRE

PRÉPARATION ET PROPRIÉTÉS DES SÉRUMS ANTIPNEUMOCOCCIQUES

par C. TRUCHE

Les études poursuivies ici, depuis plusieurs années, sur le pneumocoque [voir les neuf mémoires précédents (1)] nous ont conduit à tenter de préparer des sérums en vue du traitement des affections pneumococciques et leur emploi au cours de la dernière épidémie de grippe a permis d'en éprouver l'efficacité.

Préparation.

CHOIX DE L'ANTIGÈNE. — Les sérums antipneumococciques sont obtenus en hyperimmunisant des chevaux avec des pneumocoques de très grande virulence.

Dans sa thèse sur l'*Immunité antipneumococcique*, M^{lle} Raphael a établi d'une façon très nette que *l'étendue du domaine immunisant d'un pneumocoque apparaît comme liée à la virulence de ce pneumocoque*. Cette affirmation, basée sur ses expériences chez le lapin, s'est trouvée confirmée par nos expériences sur les grands animaux.

Nous n'avons pas eu recours aux cultures vivantes, parce que les germes peuvent se multiplier chez les chevaux et persister dans le sérum, d'où incertitude pour l'expérimentateur et danger pour le malade. Les cultures tuées par la chaleur sont, en général, mal supportées, soit qu'on emploie les cultures totales, soit les cultures centrifugées. Aussi nous avons donné la préférence aux corps microbiens tués par l'alcool-éther et les résultats nous ont donné satisfaction. Les

(1) Ces *Annales*, t. 25, 1911, p. 480; t. 26, 1912, p. 1, 5, 393, 530; t. 27, 1913, p. 289, 322, 886 et t. 34, 1920, p. 26.

cultures sur milieux solides sont très maigres et pratiquement inutilisables. Deux milieux liquides, que nous appelons milieu T (1) et milieu MM (2), se prêtent particulièrement bien à l'obtention de cultures très riches rappelant comme abondance celles du staphylocoque. Les cultures jeunes (quinze à dix-huit heures) sont centrifugées à l'appareil de Jouan, le culot est traité par l'alcool-éther et desséché le lendemain dans le vide sulfurique. Le produit sec est broyé dans le broyeur à billes en poudre très fine et conservé en flacons stériles. On peut ainsi préparer d'avance une grande quantité d'antigène et opérer dans des conditions rigoureusement comparables pendant toute la durée de l'immunisation.

MÉTHODE D'IMMUNISATION. — Après de nombreux essais, nous avons adopté la méthode suivante : on injecte, dix jours de suite, la même dose, 2 centigr. par voie intraveineuse ; après dix jours de repos le cheval est saigné. Deux semaines plus tard, on injecte quatre jours de suite des doses graduellement croissantes ; on laisse encore dix jours au repos, on saigne le onzième jour et l'immunisation se continue ainsi toujours avec le même rythme.

MOYEN D'ÉVITER L'HYPERSENSIBILITÉ. — Le cheval devient facilement hypersensible à la toxine pneumococcique et même certains animaux présentent une grande sensibilité naturelle vis-à-vis de ce poison. On évite les accidents, à coup sûr, en diluant l'antigène, quelle que soit la dose à injecter, dans une quantité suffisante d'eau physiologique (37°).

TITRAGE. — L'animal de choix pour le titrage est la souris. On injecte sous la peau 1/10 de centimètre cube de sérum à titrer et le lendemain 1/100 de centimètre cube d'une culture de pneumocoque homologue tuant les témoins au millionième de centimètre cube ou même moins.

Un titrage est fait à chaque saignée sur deux animaux au moins ; le sérum est étudié au point de vue de l'agglutination et de la fixation du complément. A ce sujet, nous rappelons que le pouvoir préventif ou curatif des sérums antimicrobiens

(1) C. TRUCHE, A. CRAMER et L. COTONI, Milieu T. Ces *Annales*, juin 1911, t. 25, p. 480.

(2) M. NICOLLE, E. DEBAINS et C. JOUAN, Milieu MM. Ces *Annales*, avril 1918, t. 32, p. 150.

ne marche pas de pair avec le pouvoir agglutinant. Les sérums qui ont un taux d'agglutination suffisant sont conservés pour l'identification ultérieure des différents types de pneumocoques.

SÉRUMS MONOVALENTS ET POLYVALENTS. — Les auteurs américains considèrent les sérums comme strictement monovalents, mais la théorie émise par M^{lle} Raphaël dans sa thèse nous permet de croire que cette spécificité n'est pas absolue. En effet, étant donné qu'un type quelconque de pneumocoque n'est qu'un assemblage, une mosaïque d'antigènes, l'organisme répond aux antigènes accessoires et pas seulement à l'antigène dominant. Le sérum obtenu offre donc une zone de protection qui dépasse certainement celle de l'anticorps dominant. Chez l'homme notamment, un sérum possédant un fort pouvoir préventif est actif à la fois vis-à-vis du type homologue et vis-à-vis de certains types hétérologues; c'est ainsi qu'un certain nombre de cas de pneumonies du type III ont été guéris par le sérum I et surtout par le sérum II.

Propriétés des sérums antipneumococciques.

MODE D'EMPLOI CHEZ L'HOMME. — Tout d'abord, il est bien entendu que les sérums ne valent que contre les affections à pneumocoques. (Certains auteurs affirment avoir obtenu des résultats nets dans des affections à streptocoques; nous reviendrons plus tard sur cette question.)

S'il s'agit d'une affection pulmonaire, on pratique une ponction à la seringue dans la région hépatisée; on aspire quelques gouttes de liquide qu'on étale sur un tube de gélose inclinée.

Quand on ne peut réussir de cette façon, il faut se résigner à faire l'isolement à partir du crachat. On choisit de préférence un crachat rouillé obtenu par une profonde expectoration, on vérifie sur lame la présence et l'abondance du pneumocoque. On le lave plusieurs fois dans l'eau physiologique et on l'étale avec le fil de platine sur plusieurs tubes successifs de gélose inclinée. Mais cette dernière méthode n'est pas à conseiller, car elle est beaucoup plus longue et l'isolement peut demander plusieurs jours.

Pour les méningites, les pleurésies, les infections sanguines, on opère suivant les méthodes habituelles.

Comme les autres sérums antimicrobiens, le sérum antipneumococcique s'emploie à fortes doses.

Dans la pneumonie franche, on injecte par la voie sous-cutanée 80 à 100 cent. cubes le premier jour, 20 à 40 cent. cubes les jours suivants s'il n'y a pas d'amélioration.

Pour la voie intramusculaire, on emploie des doses un peu moindres : 30 à 40 cent. cubes le premier jour, pour continuer ensuite quotidiennement avec 20 cent. cubes.

La méthode de choix, d'après le D^r Cruveilhier, est l'injection intraveineuse; pour éviter les phénomènes d'hypersensibilité chez les malades ayant reçu antérieurement un sérum équin quelconque (S. antidiphthérique, S. antitétanique), on dilue le sérum au 1/10, soit 20 cent. cubes dans 180 cent. cubes d'eau physiologique portée à 37°. Les 20 premiers cent. cubes doivent être injectés très lentement, le reste est poussé plus rapidement sans inconvénients.

On peut renouveler cette injection plusieurs jours de suite sans qu'il en résulte d'accidents.

Quelle que soit la voie employée, le sérum est très bien supporté par les malades, qui éprouvent le plus souvent une sensation très marquée d'euphorie. L'observation attentive du pouls est très importante pour le pronostic: si la chute du pouls précède ou coïncide avec la chute de la température le pronostic est favorable; si au contraire le pouls reste serré, faible, l'action du sérum est insuffisante, il faut répéter l'injection.

Si malgré cela le pouls ne s'améliore pas, c'est que le traitement sérothérapique a été appliqué trop tard.

Dans la pleurésie, on injecte dans la plèvre, après évacuation du liquide, au moins 60 cent. cubes de sérum pur ou faiblement dilué. De plus, on injectera tous les jours 20 cent. cubes dans la veine.

Dans la méningite à pneumocoques, on injectera après la ponction lombaire 40 cent. cubes dans le canal rachidien et 20 cent. cubes dans la veine tous les jours également.

Dans les endocardites à pneumocoques la seule méthode à employer est l'injection intraveineuse à raison de 20 cent. cubes par jour.

Résultats thérapeutiques.

L'action la plus évidente du sérum se manifeste dans la pneumonie lobaire franche: la défervescence se produit dans les vingt-quatre à quarante-huit heures après l'injection et le pouls tombe de 110-120 à 80 pulsations.

Dans la pleurésie, son action est moins nette; après une amélioration passagère le liquide pleural réapparaît et il faut procéder à l'opération de l'empyème. Cependant beaucoup de praticiens affirment que la durée de la maladie est abrégée et que la suppuration se tarit beaucoup plus rapidement qu'avec la méthode ordinaire. La méthode des injections intra-veineuses journalières faites concurremment avec l'injection intrapleurale initiale donnera, nous en sommes convaincu, de meilleurs résultats.

La méningite à pneumocoques ne semble pas avoir été jusqu'ici favorablement influencée par le sérum, cependant le D^r Cruveilhier a traité et guéri un malade en employant le sérum dans la veine en même temps que dans le canal rachidien. Les doses à injecter sont les mêmes que dans la pleurésie, soit environ 40 cent. cubes dans le canal rachidien et 20 cent. cubes tous les jours dans la veine. Il est à noter que, dans ce cas, il est nécessaire d'examiner attentivement le liquide de ponction, car, ainsi que le professeur Netter l'a judicieusement montré, il arrive assez fréquemment que le pneumocoque et le méningocoque coïncident ou se succèdent dans ce liquide. L'intervention thérapeutique doit donc, dans ces cas mixtes, s'inspirer des résultats des examens bactériologiques. Dans les affections pneumococciques secondaires, si fréquentes dans la grippe, il faut injecter le sérum le plus précocement possible. Defressine et Violle (1) injectent systématiquement à titre préventif 20 cent. cubes de sérum à tous les entrants pour grippe et ils ont obtenu des résultats satisfaisants.

Un léger inconvénient dans l'emploi des sérums antipneumococciques est l'apparition plus ou moins tardive d'accidents sériques (urticaire, arthralgies), mais cela n'est pas particulier

(1) DEFRESSINE et VIOILLE, C. R. Académie des Sciences, t. 167, 1918, p. 503.

à ces sérums. Le traitement au chlorure de calcium préconisé par de nombreux auteurs ne semble qu'un palliatif très insuffisant à ces accidents désagréables. Par la voie intraveineuse, il semble toutefois qu'ils soient moins fréquents que par la voie sous-cutanée : sur 20 cas traités par le D^r Cruveilhier, un seul sujet fut atteint d'urticaire sérique.

On a objecté que, la pneumonie étant une maladie à type cyclique « *tournant court* », parfois de deux ou trois jours ou se terminant d'elle-même par la résolution dans la majorité des cas, il était difficile de faire la part du sérum dans les guérisons. Cependant le très grand nombre d'observations que nous possédons nous a montré que, dans l'ensemble, jamais la moyenne de cas « *tournant court* » n'a été aussi forte, comme aussi jamais le nombre de guérisons n'a été aussi élevé. D'après deux statistiques du D^r Blazy, au camp des Sénégalais à Saint-Raphaël, portant sur un nombre important de malades, la mortalité, qui était chez les nègres de 30 à 32 p. 100, s'est abaissée dans l'une à 13-14 p. 100 et dans l'autre à 8 p. 100.

Le D^r Lassance (1) dans un hôpital militaire a vu la mortalité tomber de 12 à 3 p. 100. C'est donc une preuve formelle de l'efficacité de nos sérums et, actuellement, le médecin doit donc n'avoir aucune hésitation pour traiter ses malades avec ce nouveau moyen thérapeutique mis à sa portée.

(1) D^r LASSANCE, *La Presse Médicale*, 25 janv. 1919.

Le Gérant : G. MASSON.

A new edition, revised and enlarged, by the author, J. F. Johnson, Esq. of New York. Published by J. F. Johnson, No. 12, N. York Street, New York.

The History of the United States, from the first settlement of the colonies to the present time, is a subject of great interest and importance. It is a subject which has attracted the attention of the public mind, and which has been the subject of many valuable works. The present work is a new edition, revised and enlarged, by the author, J. F. Johnson, Esq. of New York. It is a work which is intended to be a complete and accurate history of the United States, from the first settlement of the colonies to the present time. It is a work which is intended to be a complete and accurate history of the United States, from the first settlement of the colonies to the present time.

The present work is a new edition, revised and enlarged, by the author, J. F. Johnson, Esq. of New York. It is a work which is intended to be a complete and accurate history of the United States, from the first settlement of the colonies to the present time. It is a work which is intended to be a complete and accurate history of the United States, from the first settlement of the colonies to the present time.